

Facultat de Veterinària

Departament de Ciència Animal i dels Aliments

Treball presentat per a la superació de 15 crèdits del Mòdul “Treball Final de Màster” del Màster Oficial en Qualitat d’Aliments d’Origen Animal

Ús de preparats “Clean label” en l’elaboració de preparats de carn

Irina Enrich Martinez

Directora

Dra. Montserrat Mor-Mur Francesch

La Dra. Montserrat Mor-Mur Fransesch, Professora titular del Departament de Ciència Animal i dels Aliments de la Universitat Autònoma de Barcelona,

INFORMA

Que el treball titulat “Ús de preparats Clean label en l’elaboració de preparats de carn” ha estat realitzat sota la seva supervisió i tutela per Irina Enrich Martinez, com a Treball de Fi de Màster en Qualitat d’Aliments d’Origen Animal de la Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona, a tres de juliol del 2019.



Irina Enrich Martinez 3/07/2019

St. Llorenç d’Hortons

ÍNDEX

1. RESUMS.....	1
2. INTRODUCCIÓ.....	3
2.1. Conceptes bàsics.....	3
2.2. Elaborats “Clean label”	3
2.2.1. Què són?.....	4
2.3. Atmosferes modificades.....	4
2.4. Els sulfits en la carn.....	6
2.5. Indicadors de qualitat en els derivats carnis.....	6
2.5.1. Indicadors microbiològics.....	7
2.5.2. Indicadors físics.....	8
2.5.3. Indicadors químics.....	9
2.6. Plantejament per a l’elaboració de nous productes a Roler S.L.	9
2.7. Objectius.....	10
3. MATERIAL I MÈTODES GENERALS.....	11
3.1. Diagrama.....	11
3.2. Metodologia pels indicadors de qualitat a analitzar.....	12
3.3. Preparació de les mostres.....	14
3.4. Anàlisis estadístiques.....	15
4. ESTUDI PREVI: SELECCIÓ DELS PREPARATS.....	16
4.1. Disseny i objectiu.....	16
4.2. Material i mètodes.....	16
4.3. Resultats i discussions.....	17
5. ESTUDI 1: VIDA ÚTIL DE LES HAMBURGUESES ELABORADES AMB ELS PREPARATS SELECCIONATS.....	20

5.1. Disseny i objectiu.....	20
5.2. Resultats i discussions.....	21
5.2.1. Resultats dels preparats P1, P2 i P3.....	21
6. ESTUDI 2: ELABORACIÓ D'HAMBURGUESES A ESCALA INDUSTRIAL.....	27
6.1. Disseny i objectiu.....	27
6.2. Resultats i discussions.....	27
6.2.1. Comparació entre els resultats obtinguts per P1, P2, P1F ₂ i P2F.....	32
7. ESTUDI 3: CHALLENGE TEST.....	34
7.1. Disseny i objectiu.....	34
7.2. Material i mètodes.....	34
7.3. Resultats i discussions.....	36
8. CONCLUSIONS.....	37
9. BIBLIOGRAFIA.....	38
10. ANNEXOS.....	42
10.1. Annex 1: Anàlisi microbiològica: Indicadors i <i>Salmonella</i>	42
10.2. Annex 2: Ingredients de les hamburgueses.....	43
10.3. Annex 3: Resultats de l'estudi previ.....	44
10.4. Annex 4: Resultats de l'estudi 1.....	48
10.5. Annex 5: Resultats de l'estudi 2.....	50

1. RESUMS

Títol: Ús de preparats “Clean label” en l’elaboració de preparats de carn.

El present treball es va realitzar sota la supervisió del departament d'I+D de l'empresa Roler Terrassa. En els últims anys hi ha hagut un augment en la demanda de productes sense conservants artificial i poc processats, de manera que des del departament d'I+D estan treballant en el desenvolupament de formulacions més naturals (Clean label) per als seus productes. L'objectiu d'aquest treball era l'avaluació de diferents preparats de carn "Clean label" o sense additius artificials, a escala de planta pilot i industrial, a través d'estudis de vida útil. El temps de vida al que s'esperava arribar era de mínim 10 dies i, els paràmetres analitzats van ser indicadors químics, físics i biològics. El treball es va dividir en 3 etapes. La primera etapa consistia en provar una bateria de 12 preparats conservants diferents per identificar els que millor funcionaven. Els resultats obtinguts van mostrar que dels 12 preparats només 6 mostraven un temps de vida útil de 10 dies o més, a més, aquests 6 preparats estaven basats en derivats de l'àcid acètic. La segona etapa va consistir en seleccionar els 3 preparats que millor havien funcionat de l'etapa anterior i repetir les anàlisis però amb un major nombre de mostres per verificar els resultats. Finalment, l'última etapa va consistir en la utilització de 2 d'aquests 3 preparats per elaborar les hamburgueses a escala industrial. Els resultats obtinguts van mostrar l'existència de clares diferències en l'efectivitat d'aquests preparats en funció de si eren utilitzats a escala industrial o a planta pilot.

Paraules clau: preparat de carn, “Clean label”, sense additius artificials, vida útil, escala industrial, acetat.

Title: Use of Clean Label products in the elaboration of meat preparations

The present work was carried out under the supervision of the I+D department of Roler (Terrassa). In the last years have increased the demand of products without artificial preservative and minimally processed, so that, in the I+D department are working on the development of new formulations, more natural (Clean label), to the consumers. The aim of this work was the evaluation of different meat preparations Clean label or without artificial additives, on an industrial and laboratory scale, via shelf-life studies. The expected lifetime was at last 10 days, the analysed parameters were physical, chemical and biological indicators. This work was divided in 3 parts. The first one consisted in testing a battery of 12 different preservative preparations, to identify which are the best. The results show that only 6 of the 12 preparations had a lifetime more than 10 days, in addition, all these preparations derived from acetic acid. The second one consisted in the selection of the 3 preparations that had shown the best results in the first part and repeat the analyse but, with a higher number of samples, in order to verify the results. The last one consisted in testing 2 of these 3 preparations on an industrial scale. The results showed the existence of clear differences in the effectiveness of these preparations based on its use.

Key words: meat preparations, Clean label, without artificial additives, lifetime, industrial scale, acetate.

2. INTRODUCCIÓ

Roler Espanya S.L. és una empresa càrnia de Terrassa que va néixer al voltants dels anys setanta a partir d'una petita carnisseria de barri, esdevenint la primera empresa elaboradora i comercialitzadora de carn picada envasada de l'estat espanyol. Els seus valors fonamentals són la qualitat i la seguretat alimentaris, l'empresa disposa del certificat ISO 14001 i IFS Food. Tots els productes són sotmesos a exhaustius controls de qualitat, des de la primera matèria fins al producte final. Roler és una empresa innovadora, els departaments d'I+D i màrqueting treballen conjuntament en la cerca i elaboració de nous productes que satisfacin les demandes dels consumidors (Roler S.L.).

2.1. Conceptes bàsics

És important definir els conceptes de canal, carn picada, preparat de carn i burger meat. En l'Annex 1 del Reglament (CE) N° 853/2004 i en el Capítol II del Real Decret 474/2014 trobem les següents definicions:

- **Canal:** cos d'un animal un cop sacrificat y treballat.
- **Carn picada:** carn desossada que ha estat sotmesa a una operació de picat en trossos i que conté menys d'un 1% de sal.
- **Preparat de carn:** carn fresca, inclosa la carn que ha estat trossejada, a la que s'han afegit productes alimentaris, condiments o additius, o que ha estat sotmesa a transformacions que no basten per a alterar l'estructura interna de la fibra muscular ni, per tant, per a eliminar les característiques de la carn fresca.
- **Producte carni:** els productes transformats resultants de la transformació de la carn o de la nova transformació d'aquests productes transformats, de manera que la superfície de tall mostri que el producte ha deixat de posseir les característiques de la carn fresca.
- **Burger meat:** preparat fresc, elaborat a partir de carn picada i altres ingredients, inclosos els additius, amb un contingut mínim de cereal o hortalisses, o ambdós, del 4 %.

2.2. Elaborats "Clean label"

En els últims anys hi ha hagut un augment en la demanda d'elaborats que no continguin conservants artificials, no estiguin ultraprocessats, continguin ingredients coneguts, tinguin un temps de vida adequat i siguin segurs (Grant i Parveen, 2017). Això ha provocat que moltes empreses comencin a renovar les seves fórmules per tal de reduir l'ús d'additius artificials i

substituir-los per extractes naturals amb funcions conservants (Hardin, 2014). Aquests canvis poden tenir diferents efectes en les característiques fisicoquímiques dels aliments i en la seva estabilitat microbiològica i, en conseqüència, sobre el seu temps de vida útil (Klicast, 2008).

El Reglament 1334/2008 de la Unió Europea ofereix una definició clara i precisa del que és una substància natural: és qualsevol ingredient o additiu, natural o sintètic, que s'obté d'animals, vegetals o microorganismes.

2.2.1. Què són?

Actualment no existeix una definició del que és un producte “Clean label” no obstant això, *The International Food Ingredients Magazine* amb la col·laboració d'experts en el món de la indústria alimentaria i associacions de consumidors de diferents països van elaborar una definició general: els productes “Clean label” han d'estar lliures de colorants, aromes i additius artificials; les etiquetes dels productes han de ser simples i fàcils de llegir; el producte ha d'estar elaborat amb ingredients coneguts i ha d'estar mínimament processat o processat de manera tradicional (Grant i Parveen, 2017). Qualsevol producte que contingui ingredients que sonin a químics o que hagin estat molt processats ja no pot ser considerat com a “Clean label”. Això suposa un repte per a les indústries càrnies i els desenvolupadors de productes, ja que es veuen forçats a treballar amb les últimes tecnologies disponibles per tal d'obtenir productes que compleixin amb les exigències de “Clean label” i dels consumidors (segurs i econòmics) (Hardin, 2014).

2.3. Atmosferes modificades

L'envasat en atmosfera protectora o MAP és una tècnica d'envasat que permet conservar els aliments frescos durant més temps, augmentant així la seva vida útil, en combinació o no amb l'ús de conservants o estabilitzadors. El MAP substitueix l'aire atmosfèric de l'interior dels envasos per una barreja de gasos (O_2 , CO_2 i N_2), que ajuden a assegurar que el producte es mantingui fresc durant més temps (MOCON Europe, 2012). En general es requereix la utilització de concentracions d' O_2 inferiors a l'atmosfèrica, concentracions relativament altes de CO_2 (més del 20%) i N_2 , per tal de mantenir la frescor i seguretat de l'aliment. El N_2 és un gas inert que s'utilitza per acabar d'emplenar els envasos, el CO_2 s'utilitza per evitar el creixement de microorganismes, ja que presenta activitat antimicrobiana i antifúngica (Sanguinetti *et al.*, 2009).

La utilització de MAP en l'envasat de carn fresca presenta un repte degut a dos factors contradictoris. Per una part tenim que els microorganismes responsables de la descomposició de la carn són bacteris aeròbics, per tant seria desitjable una atmosfera amb baixes concentracions d'O₂. I per l'altra, que per conservar el color vermellós de la carn és necessari envasar-la amb elevades concentracions d'O₂ (MOCON Europe, 2012).

El color de la carn ve determinat per les diferents formes de la mioglobina. El contingut d'aquest pigment en el múscul depèn de diversos factors (espècie, raça, edat, sexe, múscul, alimentació,...), mentre que el seu estat d'oxidació o desnaturalització depèn de diversos factors *post-mortem* (pressió parcial d'oxigen, reducció de la temperatura, descens de pH, temps d'emmagatzematge, condicions de comercialització,...). En funció de l'estat d'oxidació de l'àtom de ferro del grup hemo podem identificar tres formes del pigment, que donen tres colors diferents (Figura 1) (Auqui, 2014).

En absència d'O₂, la mioglobina està en forma de deoximioglobina o mioglobina reduïda (Mb), i presenta l'àtom de ferro en estat reduït (Fe²⁺), generant en la carn un color vermell-porpra. No obstant, en presència d'O₂ la mioglobina s'oxigena i passa a oximioglobina (MbO₂), el ferro es manté en la forma reduïda (Fe²⁺), proporcionant un color vermell intens i brillant. Però al mateix temps, l'oxigen provoca l'oxidació del pigment i genera metamioglobina (MMb), de color marronós (Fe³⁺) (Auqui, 2014).

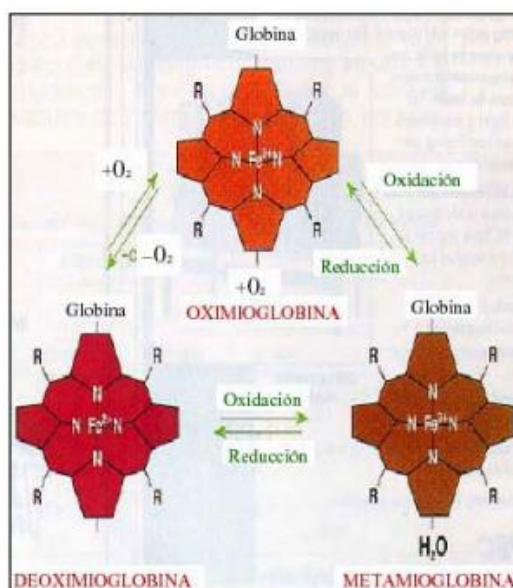


Figura 1. Interconversió redox dels pigments de la carn (Auqui, 2014).

La concentració d'O₂ present en l'aire afavoreix la formació de MMb, provocant l'enfosquiment de la carn. No obstant, elevades concentracions d'O₂ fan que la Mb passi a

MbO₂, generant el color vermell intens desitjat en la carn. De manera que si s'utilitzen les barreges adequades de MAP (60-80% d'O₂ i 40-20 % de CO₂) aconseguim conservar el color vermell de la carn fresca i inhibir gran part del creixement dels microorganismes aeròbics gràcies al CO₂. (MOCON Europe, 2012). No obstant això, el MAP permet un limitat temps de vida útil (uns 10 dies a 4 °C) degut a que l'elevada concentració d'oxigen afavoreix el desenvolupament dels microorganismes aerobis (Jayasingh *et al.*, 2001).

Les proporcions de gasos més comuns en el MAP de carn vermella són 70-80% O₂ i 30-20% CO₂. Un estudi realitzat per Yang *et al.*, (2016) suggereix que 70% O₂ i 30% CO₂ és la millor concentració de gasos per carns de coloració vermella (vacum i porc).

2.4. Els Sulfits

Amb el terme “sulfits” s'identifiquen diversos compostos químics que contenen ions sulfít (SO₃²⁻) i són utilitzats en la indústria alimentària per conservar el color dels aliments i allargar la seva vida útil alentint el creixement microbià (funcions antioxidants i antimicrobianes). Donat al seu potencial al·lèrgogen són uns dels additius pels quals fa més temps que buscant substituïts.

Segons la FDA almenys un 1% de la població mundial és sensible als sulfits, d'aquí la importància de declarar la seva utilització com a ingredient. Se'ls classifica com a compostos de toxicitat baixa, ja que provoquen reaccions al·lèrgiques lleus o intoleràncies (asma, rinitis al·lèrgica, urticària) i rarament anafilaxis. La població asmàtica és especialment sensible als sulfits, sobretot els nens, adults asmàtics dependents d'esteroides i les persones amb deficiències parcials de l'enzim sulfito oxidasa (Korićanac *et al.*, 2017).

2.5. Indicadors de qualitat en els derivats carnis

La qualitat d'un derivat carni ve determinada per com s'han produït els, el sacrifici, l'emmagatzematge de la canal, la fórmula i el processament (Singhal *et al.*, 1997). El creixement microbià, la decoloració de la carn i l'oxidació dels lípids són factors molt importants en la determinació del temps de vida útil dels productes (Parra *et al.*, 2010). Existeixen molts tipus diferents d'indicadors en la carn, però els més utilitzats en la carn fresca són: els microbiològics (mesòfils aerobis, Enterobacteris, *Escherichia coli* i *Salmonella*), els físics (color, olor, textura) i els químics (pH, contingut de gasos).

2.5.1. Indicadors microbiològics

La qualitat microbiana està molt influenciada pel tipus de carn, el processament, la distribució i les condicions d'emmagatzematge (Nychas *et al.*, 2008). Després del sacrifici tenen lloc una sèrie de reaccions catabòliques que afavoreixen el creixement de microorganismes. La càrrega microbiana total i el recompte de coliforms són els millors indicadors d'higiene i sanejament (Singhal *et al.*, 1997). Dos dels factors que més afecten la cinètica de creixement microbiana durant l'emmagatzematge són la temperatura i l'atmosfera. Els indicadors microbiològics utilitzats en preparats carnis són:

- **Mesòfils totals:** S'utilitza per conèixer la contaminació microbiana global de l'aliment. Aquesta contaminació pot ser deguda a les condicions higièniques de la primera matèria o a l'entorn (manipulació, material, ambient...). Un indicador de la presència de mesòfils és l'augment en la concentració de CO₂ i el descens de la d'O₂ (Höll *et al.*, 2016).
- **Enterobacteris:** coliforms que pertanyen a la família Enterobacteriaceae. Són gram negatiu i anaeròbics facultatius. Dins d'aquest grup trobem *E. coli* i *Salmonella* spp.

E. coli: S'utilitza com a bioindicador de contaminació fecal en aliments, ja que és un hoste habitual del sistema digestiu en animals de sang calenta (Matthews *et al.*, 2017).

Salmonella: S'utilitza com a bioindicador de contaminació fecal, la seva transmissió és fecal-oral per contaminació d'aigua o aliment (International Food Information Service, 2005).

El reglament 2073/2005 estableix els límits legals de recompte microbiològic en preparats carnis a final de vida útil (Taula 1):

Taula 1. Límits legals de recompte microbiològic segons el reglament 2073/2005 en producte final de preparats carnis.

Microorganisme	UFC/ g producte final
Mesòfils totals*	5·10 ⁶
Enterobacteris*	5·10 ⁴
<i>E. coli</i> *	5·10 ³
<i>Salmonella</i> **	Absència en 25 g

* A final del procés de fabricació

** Productes comercialitzats durant tota la seva vida útil

2.5.2. Indicadors físics

Els indicadors físics fan referència a l'aspecte general del producte. Els més utilitzats en la carn fresca són: color, olor, presència d'exsudat, textura i estat de les barquetes (bombament o col·lapsat).

- **Color:** Quan més duri el període de refredament i de conservació en fred de la carn, major serà la desnaturalització de les proteïnes, que pot provocar un augment en la lluminositat (L^*) i dels valors de les coordenades vermell-verd (a^*) i groc-blau (b^*) (MacDougall, 1982). Però, a mesura que passa el temps la carn és va deteriorant (aparició d'olor a ranci i taques, enfosquiment), els valors dels paràmetres a^* i b^* disminueixen (Hernández, 1994; Bonhomme i Renerre, 1991), sent major la caiguda de la coordenada vermell (a^*), que coincideix amb la pitjor valoració sensorial per part dels consumidors (Moore i Young, 1991).

Dins dels aspectes microbiològics, els bacteris són els principals causants de la decoloració de la carn (Goenaga, 2010). Els bacteris capaços de produir un color verdós en la superfície de la carn són bacteris acidolàctics halotolerants (LAB), capaços de créixer a baixes temperatures i de produir i acumular peròxid d'hidrogen en condicions aeròbiques, un fort agent oxidant que degrada els pigments de la carn. També poden provocar la formació de sulfomioglobina de color verd, per la producció de sulfur d'hidrogen (Lawrie, 1985).

L'emmagatzematge de la carn a baixes temperatures disminueix l'activitat respiratòria dels microorganismes, lo qual produeix una capa més gruixuda d' MbO_2 (Boakye i Mittal, 1996). En canvi, un augment de la temperatura de refrigeració de la carn disminueix l'estabilitat del color degut a que augmenta la velocitat d'oxidació de la Mb (MacDougall, 1982), augmenta el creixement microbià i accelera l'oxidació dels lípids (Faustman i Cassens, 1990).

- **Olor:** l'oxidació lipídica de la carn es pot comprovar organolèptica-ment a través del color i l'aparició d'olor i gust a ranci. L'oxidació lipídica és un procés irreversible, i un cop s'inicia és molt difícil de controlar (Goenaga, 2010).
- **Estat de les barquetes:** El col·lapse o bombament de les barquetes és degut a la variació del volum dels gasos de l'atmosfera protectora que entre altres, depèn dels canvis en la temperatura d'emmagatzematge.

2.5.3. Indicadors químics

Dos indicadors químics molt utilitzats són:

- **pH:** Un descens del pH és indicador de que part del CO₂ de l'atmosfera s'ha dissolt en l'aigua de la carn, fet habitual , ja que el CO₂ és un gas molt soluble en teixits greixosos i en l'aigua dels aliments (O'Sullivan *et al.*, 2015; Rossaint *et al.*, 2016). No obstant, si el percentatge d'O₂ es manté més o menys constant, un descens de pH pot ser indicador de la presència o augment de microorganismes (Höll *et al.*, 2016). Un pH baix pot fer incrementar l'oxidació dels lípids (Parra *et al.*, 2010).
- **Seguiment del percentatge de gasos:** descensos en el percentatge d'O₂ i augment en el de CO₂ és indicador de creixement de microorganismes aerobis (Höll *et al.*, 2016).

2.6. Plantejament per a l'elaboració de nous productes a Roler S.L.

L'esquema seguit a Roler per comercialitzar nous productes és:

1. Formulació: consisteix en l'elaboració de diferents fórmules per al nou producte.
2. Elaboració i anàlisi a nivell de planta pilot: elaboració de les mostres i estudi de vida útil (4 Kg de mostra).
3. Si els resultats són favorables es passa a validar les fórmules seleccionades a escala industrial (50 Kg de mostra).
4. L'últim pas consisteix en la realització d'un tast del nou producte.

Els estudis de vida útil s'utilitzen per determinar la vida comercial de nous productes o d'aquells modificats i, per verificar la vida comercial dels ja comercialitzats (Roler S.L.). La Figura 2 mostra un esquema del procediment típic realitzat en un estudi de vida útil.

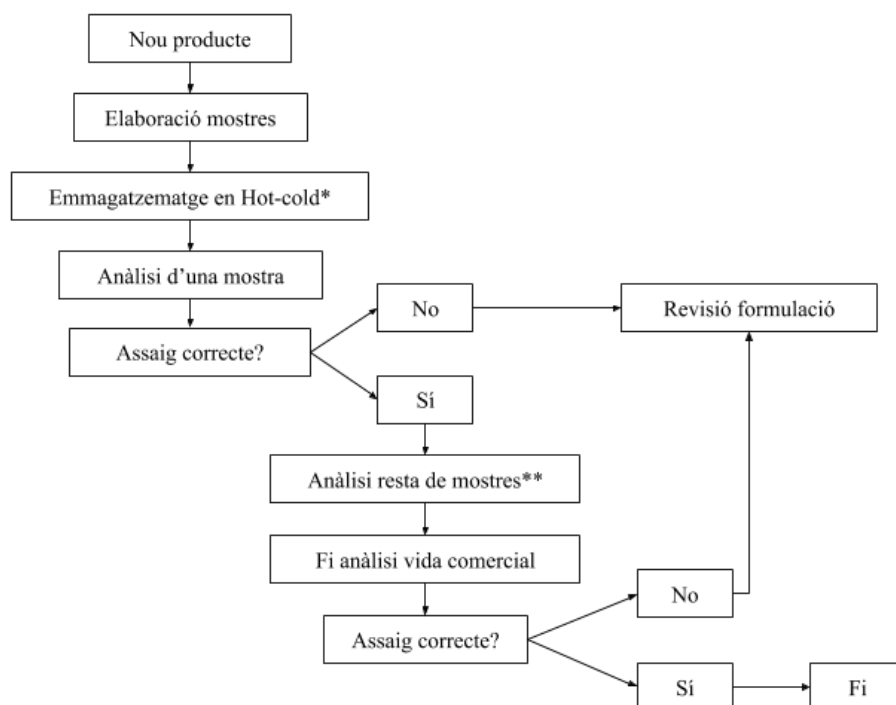


Figura 2. Diagrama de flux del procediment utilitzat a Roler per la realització dels estudis de vida útil de productes nous. * Emmagatzematge amb llum i $2^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ el primer dia, $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ el segon i tercer dia i, $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ del quart dia fins a final de vida útil. ** Per a productes amb 11 dies de caducitat es realitzaran a dia 0, 9, 10 i 12..

2.7. Objectius

L'objectiu del present treball és l'avaluació de preparats de carn "Clean label a escala de planta pilot i industrial. Per dur-ho a terme es va dividir el treball en tres parts:

1. Elaboració, en planta pilot, i anàlisi visual i microbiològica d'hamburgueses elaborades amb 12 barreges industrials de conservants naturals diferents.
2. Repetició de les mateixes elaboracions i anàlisis de la primera part però, només amb els 3 conservants que millors resultats havien donat en l'estudi anterior i, amb més rèpliques per assegurar la validesa dels resultats.
3. Utilització de 2 d'aquest 3 preparats en l'elaboració d'hamburgueses a escala industrial per avaluar les diferències entre els dos tipus de produccions.

Els paràmetres que es van analitzar en els tres estudis varen ser: contingut microbià, pH, evolució del perfil de gasos de les barquetes, color i anàlisi sensorial (olor, color, presència d'exsudat, textura al tacte i estat de les barquetes).

3. MATERIAL I MÈTODES GENERALS

3.1. Diagrama

En aquest apartat s'explicarà la metodologia general utilitzada en els 3 estudis, així com els tractaments estadístics realitzats en els estudis 1 i 2. Si algun dels estudis ha requerit una metodologia especial aquesta es troba explicada en l'apartat de l'estudi corresponent.

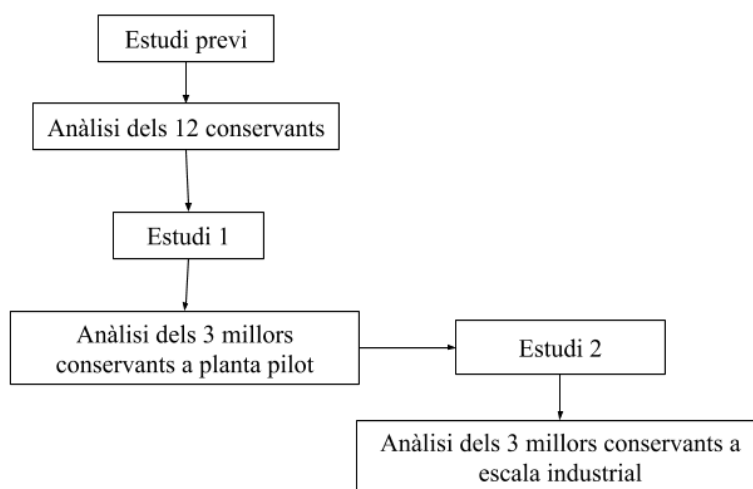


Figura 3. Esquema dels diferents estudis realitzats.

Per tal de dur a terme els 3 estudis de la Figura 3 es va dur a terme el següent procediment:

- **Registre de la informació de la primera matèria i anàlisi microbiològica:** Es va realitzar el seguiment de les canals utilitzades (raça, proveïdor, lot, dia de recepció de la canal, dia de desfeta, temperatura dels retalls després de la desfeta i abans de la picada, microbiologia de la canal). A la Taula 2 es presenta un exemple de la taula de les temperatures i microbiologia. La carn es picava el dia de desfer la canal i, els retalls s'emmagatzemaven al túnel de fred fins que arribaven a una temperatura de $0-2^{\circ}\text{C}$, després es pujaven a la cambra frigorífica de la planta pilot (a uns $2^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) on es guardaven fins al moment de la picada.
- **Elaboració i emmagatzematge:** en funció de l'estudi es van elaborar més o menys hamburgueses, no obstant, totes tenien un pes d'uns 100 g. Les hamburgueses van ser elaborades seguint la formulació proporcionada pel departament d'I+D de Roler (Annex 2). Després van ser envasades a fàbrica en barquetes Hx4 utilitzant una atmosfera modificada de 60% O_2 , 30% CO_2 i 10% N_2 . Es va escollir aquesta atmosfera perquè, segons Roler, és la que millors resultats dona en carn vermella. Un cop embassades es van guardar les mostres a la cambra frigorífica de la planta pilot, que té una temperatura de $2^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Un factor molt important a tenir en compte en l'evolució del perfil dels gasos, és que les envasadores no distribueixen les mateixes proporcions en cada cicle d'envasat, fet que genera una petita variació en el perfil de gasos de les barquetes. A més, també existeix una petita variació en el perfil de gasos entre barquetes envasades en el mateix cicle. Des del departament de qualitat de Roler tenen establert que el límit crític per productes envasats amb 3 gasos són: mínim un 40% d'O₂ i un 10% de CO₂. Un problema recurrent a l'empresa és l'alta variació en el percentatge de gasos injectat en cada barqueta.

Taula 2. *Temperatures dels retalls de carn utilitzats per a l'elaboració de les hamburgueses i contingut microbiològic de les canals. T° representa la temperatura dels retalls en el moment de la seva recollida a la sala de desfer i T^f la temperatura dels retalls just abans de picar. P1-P12 són el conjunt de preparats conservants analitzats.*

Conservants	Data recepció	Data desfeta	T°(°C)		T ^f (°C)		Microbiologia (ufc/g)		
			Rosa	Vermell	Rosa	Vermell	Mesòfils	Enter.	E.coli
P1, P2 P3	06/03/19	08/03/19	3,6	3,4	1,6	0	4,9·10 ⁷	0	0
P4, P5, P6	08/03/19	11/03/19	4,5	4,5	0,8	0,3	4,7·10 ⁵	0	0
P7, P8, P9	15/03/19	15/03/19	3,8	4,4	1,2	0,3	4,3·10 ⁶	1040	<10
P10, P11, P12	15-16/03/19	18/03/19	4,8	3,8	0,7	1,5	4,3·10 ⁶	1108	<10

- **Anàlisis:** Les anàlisis realitzades en cada preparat van ser: pH, concentracions de gasos, color, contingut microbià i característiques sensorials. L'anàlisi del pH i contingut de gasos es van realitzar a diari, mentre que color, característiques sensorials i microbiologia es va realitzar els dies 0, 4 i 10 de vida útil.

3.2. Metodologia pels indicadors de qualitat a analitzar

Recompte microbiològic: el recompte dels indicadors es va realitzar amb el sistema Soleris de Neogen (Barcelona, Espanya), un sistema òptic ràpid de detecció de contaminació microbiana en medi de cultiu líquid que calcula el creixement microbià a través del pH i altres reaccions bioquímiques que generen un canvi de color a mesura que els microorganismes creixen i metabolitzen nutrients (Neogen Corporation, s.d.). En l'Annex 1 es descriu la metodologia utilitzada. El departament de qualitat s'encarrega del seu calibratge de manera periòdica segons el procediment normalitzat.

L'anàlisi de *Salmonella* es va fer amb Minividas de Biomérieux (Madrid, Espanya), un sistema d'immunoassaig compacte basat en els principis de la tecnologia ELFA (combinació del mètode ELISA amb una lectura final per fluorescència) que ofereix resultats precisos (bioMérieux Espanya, 2018). En l'Annex 1 es pot observar el procediment utilitzat.

pH: per mesurar el pH es va utilitzar el pHmetre Basic 20pH de Crison (Barcelona, Espanya), que es calibra diàriament. La lectura del pH de les mostres, en solució 1:1 en aigua destil·lada, es va fer immediatament després de l'obertura de la barqueta; de cada mostra es van prendre dues mesures.

Composició de gasos: l'anàlisi del perfil de gasos de les barquetes es va dur a terme amb l'analitzador de gasos CheckPoint de Dansensor (Barcelona, Espanya), que es calibra un cop a l'any.

Color: els colorímetres utilitzats va ser: el Miniscan XED de Hunterlab (Virginia, Estats Units) per les hamburgueses elaborades amb els conservants P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8 i P9 de l'estudi inicial, i el colorímetre Chroma Meter CR-400/410 (Nieuwegein, Holanda) per els preparats P10, P11 i P12 i les proves de l'estudi 1 i 2; en tots dos casos amb l'il·luminant D65 i l'observador 10. Les lectures es van fer just després d'obrir les barquetes, de cada mostra es van realitzar 6 mesures (3 a cada banda de l'hamburguesa). Es va utilitzar l'espai de color $L^*A^*B^*$ de la Commission Internationale de l'Éclairage (CIE). On L^* és la lluminositat (0 = negre, 100 = blanc), a^* la coordenada vermell/verd (+a=vermell i -a=verd) i b^* la coordenada groc/blau (+b=groc i -b=blau).

Anàlisi sensorial: l'anàlisi sensorial es va dur a terme en les hamburgueses crues i cuites. En les hamburgueses crues es va analitzar: olor, color, textura al tacte, presència d'exsudat i estat de les barquetes. En les hamburgueses cuites es va analitzar la textura al paladar, el gust i l'olor. Les anàlisis de les hamburgueses crues es van realitzar a dia 0, 4 i 10 de vida útil, i en les cuites a 0 i 10 (si les mostres arribaven en bon estat a final de vida útil). Es van escollir aquest indicadors perquè són els que més detecten els consumidors. També es va realitzar un registre fotogràfic de l'evolució dels diferents preparats al llarg de la seva vida útil. Les fotografies es van fer amb les barquetes acabades d'obrir, sempre al mateix lloc, amb la mateixa llum i amb la mateixa càmera per tal d'evitar variacions en la quantitat de llum que incideix en la mostra.

Anàlisi fisicoquímic: A l'estudi 1 i 2 es va analitzar la composició de les hamburgueses. Es va realitzar amb l'aparell FoodScan Lab de FOSS (Hillerød, Dinamarca), amb el que periòdicament es realitzen intercomparatius amb altres laboratoris per verificar el seu bon funcionament.

3.3. Preparació de les mostres

El procediment d'elaboració de les hamburgueses per als diversos estudis es present a la Figura 4. Les fórmules de les hamburgueses van estar dissenyades per a que tots els preparats de conservants tinguessin la mateixa proporció de magre, greix, sal i Extensan 8483M (una barreja de fibres vegetals i aromes (sense soja) que millora la fixació de suc en la massa de carn picada fresca i, al cuinar redueix minvaments i la retracció de la massa). Les úniques diferències que hi van haver entre les formulacions van ser en el tipus de preparat conservant i, en conseqüència, la quantitat d'aigua.

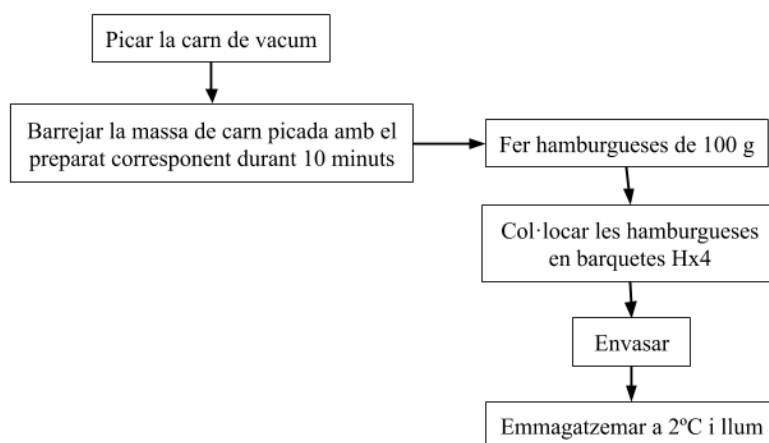


Figura 4. Diagrama de flux per l'elaboració de les hamburgueses en els diferents estudis.

Durant l'elaboració de les mostres es van controlar els següents factors:

- Es va intentar treballar sempre amb els mateixos proveïdors de carn (no es va aconseguir).
- Tots els retalls utilitzats provenien de vaques de la raça Holstein.
- La picada dels retalls es va fer el mateix dia de la seva desfeta. Els retalls es van picar un sol cop amb una placa de 5 mm quan tenien una temperatura d'entre 0 i 2 °C.
- El temps de pastat de la massa de carn picada amb el preparat conservant va ser de 10 minuts.
- Les hamburgueses es van elaborar amb aigua freda (3,8 °C).
- Es va realitzar un seguiment de la temperatura de la cambra frigorífica on es guardaven les mostres, la qual tenia programada una temperatura de 2 °C ± 1°C. En la Figura 5 s'observa el seguiment de la temperatura de la cambra frigorífica durant l'estudi previ (del 8-03-19 al 14-04-19). La temperatura mitjana de la cambra frigorífica en el període que es van realitzar els tres estudis va ser de 3,5 °C.

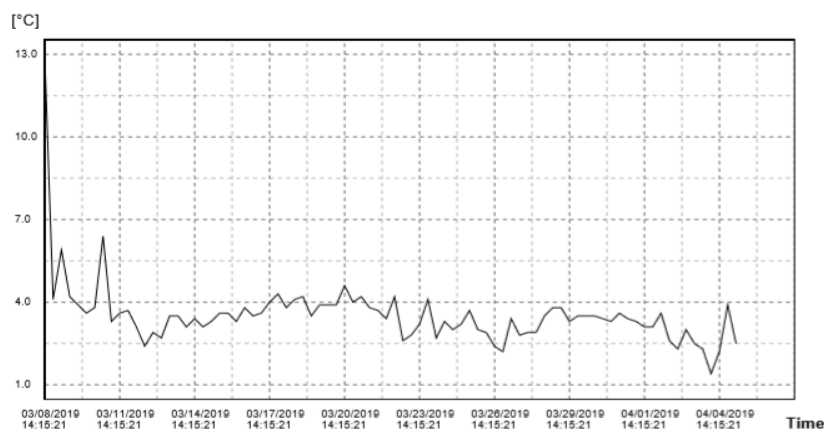


Figura 5. Evolució de la Temperatura de la cambra frigorífica de la planta pilot al llarg de l'estudi previ.

- Degut a problemes d'espai en la cambra frigorífica, cada 24 hores es van anar rotant les mostres que estaven en contacte directe amb la llum per tal de que totes les mostres tinguessin la mateixa quantitat de llum.
- Després de l'elaboració de la massa de cada preparat es van netejar i desinfectar les màquines i el material utilitzat seguint els procediments normalitzats de treball.
- Degut a que a cada dia d'anàlisi s'havia d'obrir una barqueta nova, va resultar molt difícil determinar si la variació detectada en el perfil de gasos, en els 3 estudis, era deguda a les envasadores o al propi producte.
- Durant l'anàlisi fisicoquímica de les hamburgueses dels estudis 1 i 2 es va detectar que els percentatges de greix eren molt diferents als esperats segons formulació. En el cas de l'estudi 1 es van detectar percentatges inferiors als esperats i, en l'estudi 2 percentatges superiors. Per tant, cal que l'empresa prengui mesures per obtenir unes concentracions més semblants a les formulades, ja que en cas contrari les elaboracions variaran molt entre elles.

3.4. Anàlisis estadístiques

Les anàlisis estadístiques es van realitzar amb el paquet Rcomandre i, varen ser:

- **Disseny de blocs a l'atzar** per estudiar l'efecte del tipus d'elaboració (factor) i el dia (factor bloc) sobre el color vermell i el pH (variables contínues) de les hamburgueses i, per determinar si hi havia diferències de color vermell i pH entre planta pilot i fàbrica.
- **Test de correlació:** En els estudis 1 i 2 es va realitzar un test de correlació per veure si existia alguna relació entre les variables: % CO₂- pH, % CO₂- a*, % CO₂- contingut d'aerobis i, a*- contingut d'aerobis.

4. ESTUDI PREVI: SELECCIÓ DELS PREPARATS

4.1. Disseny i objectiu

Es van analitzar 12 preparats conservants comercials, alguns classificats com a "Clean label" i altres com a "sense additius artificials". A la Taula 3 es poden observar les diferents anàlisis realitzades cada dia i el nombre de mostres utilitzades per preparat.

Taula 3. Dies d'anàlisi de cada indicador i nombre de mostres analitzades per dia per a cada preparat.

Anàlisi	Dies d'anàlisi*	Mostres /dia
pH	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10	1
Atmosfera		1
Microbiologia	0, 4 i 10	1
Color		1
Anàlisi sensorial		1

* Els caps de setmana i festius no es va realitzar cap anàlisi.

L'objectiu d'aquest estudi va ser discriminar els preparats conservants en funció del seu potencial. Per fer-ho, es va tenir en compte l'aspecte visual de les hamburgueses durant els dies de vida útil; l'evolució del contingut microbià i, les característiques sensorials de les hamburgueses elaborades amb cada preparat conservant (gust i olor després de la cocció).

4.2. Material i mètodes:

Els preparats analitzats i els seus ingredients es presenten en la Taula 4. Per cada preparat es van realitzar unes 40 hamburgueses.

Taula 4: Ingredients dels diferents preparats analitzats.

Proveïdor	Preparat	Contingut
A	P1	E-262i (acetat de sodi), E-262ii (diacetat sòdic), E-325 (lactat sòdic)
	P2	E-261i (acetat potàssic), E-261ii (diacetat potàssic)
	P3	Vinagre fermentat
B	P4	Aroma natural procedent de la fermentació de sucres
	P5	Aroma natural o sucre fermentat
	P6	Vinagre (acetat sòdic natural)
C	P7	Vinagre de poma
	P8	Vinagre de poma i sal
D	P9	Sal, midó de patata, maltodextrina, extractes d'espècies i vegetals, E-301(ascorbat sòdic) i E-330 (àcid cítric), E-262 (acetat de sodi) i aromes
E	P10	Sal, fibra i midó vegetal, maltodextrina, aromes naturals, suc concentrat de remolatxa.
F	P11	Aromes naturals (vinagre)
G	P 12	Àcids orgànics, compostos aromàtics naturals, E-270 (àcid làctic) i E-1520 (propilenglicerol)

* En rosa els preparats classificats com a "Clean label" i en negre els sense additius artificials.

4.3. Resultats i discussions

La Taula 5 mostra un resum dels resultats obtingut en les anàlisis dels 12 preparats. Per veure els resultats amb més detall anar a l'Annex 3. Dels 12 preparats analitzats el que van resultar finalment aptes van ser: P1, P2, P3 i P11.

Taula 5. Resum dels resultats globals dels indicadors de qualitat realitzats en les hamburgueses elaborades amb els 12 preparats conservants. La taula mostra els resultats obtinguts a final de vida útil. ✓ significa que els resultats van ser aptes i X que no.

		Preparats											
		P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12
Perfil gasos		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
pH		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Color		✓	✓	✓	X	X	✓	X	X	✓	✓	✓	X
Microbiologia		✓	✓	✓	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Anàlisi sensorial	Crues	✓	✓	✓	X	X	✓	X	X	✓	X	✓	X
	Cuïtes	✓	✓	✓	X	X	X	X	X	X	X	✓	X

- **Evolució del perfil de gasos:** En cap dels 12 preparats conservants l'evolució del contingut de gasos va ser indicador d'activitat microbiana. La proporció mitjana de gasos alliberades per les envasadores va ser de $69,7 \pm 2,8 \text{ O}_2$; $21,7 \pm 0,9 \text{ CO}_2$ i $8,6 \pm 3,3 \text{ N}_2$, proporcions molt diferents a les esperades (60 O_2 , 30 CO_2 i 10 N_2). En general, es va detectar que el CO_2 era el gas que tenia un contingut més diferent a l'inici i final de vida útil, mostrant una clara tendència descendent, resultat lògic degut a que part del CO_2 atmosfèric s'estava dissolent en l'aigua de la carn (Rossaint *et al.*, 2016). També es va detectar que O_2 i N_2 es compensaven. Aquest comportament en el perfil dels gasos també es va detectar en els estudis 1 i 2.
- **pH:** el pH no va ser indicador d'activitat microbiana en cap dels preparats i, els seus valors es van mantenir estables en cada preparat.
- **Color:** dels 12 preparats assajats només 7 (P1, P2, P3, P6, P9, P10 i P11) van ser capaços de conservar el color fins a dia 10 de vida útil. P4 i P5 van ser descartats a dia 4 de vida útil, P7, P8 a dia 7 i P12 a dia 10. En la Imatge 1 es pot veure l'evolució del color de les hamburgueses al llarg de l'estudi.
- **Contingut microbià:** tots els preparats van resultar ser uns bons inhibidors de l'activitat microbiana, a excepció dels preparats P4 i P5, els quals van mostrar resultats no aptes d'aerobis mesòfils a dia 10 de vida útil. L'anàlisi d'aerobis mesòfils dels preparats P10,

P11 i P12 a dia 4 de vida útil va mostrar resultats erronis que van ser deguts a un error de la incubadora, ja que aquell dia totes les anàlisis realitzades van donar exactament el mateix resultat d'aerobis mesòfils.



Imatge 1. Registre fotogràfic de les hamburgueses elaborades amb els 12 preparats a dia 0, 4 i 10 de vida útil.

- **Anàlisi sensorial:** les hamburgueses que millors resultats globals van mostrar (crues i cuites) van ser les dels preparats P1, P2, P3, P6, P9 i P11. No obstant, el preparat P6 va ser descartat perquè al cuinar les hamburgueses aquestes eren molt seques i el P9 perquè tenien un intens gust i olor a dolç (crues i cuites). Les hamburgueses dels preparats P4, P5, P7, P8, P10 i P12 només es van poder provar a dia 0, ja que no van arribar a dia 10. El preparat P4 no podia conservar ni el color ni l'olor de les hamburgueses més enllà de dia 3 de vida útil; el P5 no podia conservar el color, però sí l'olor fins a dia 10; el P7 no podia conservar ni el color ni l'olor de les hamburgueses més enllà del dia setè de vida útil; el P8 podia conservar el color més o menys fins a dia 10, però l'olor no; el P10 podia conservar les hamburgueses en bon estat fins al dia 6, a partir d'aquí començaven a desenvolupar olor a ranci i el color començava a ser poc apte; el P12 permet conservar el color i olor de les hamburgueses fins a dia 6, després ja comencen a presentar mala olor i color.

Els preparats P1, P2, P3, P6, P9 i P11 es basen en les propietats antimicrobianes de derivats de l'àcid acètic (acetat sòdic en el P1 i P9, acetat potàssic en el P2, vinagre fermentat en el P3, vinagre en el P6 i P11), el qual es molt efectiu en la inhibició del creixement de bacteris patògens i aeròbics. P7 i P8 també es basen en derivats de l'àcid acètic, però van començar a mostrar problemes organolèptics a partir del setè dia de vida útil.

El P1 a més conté lactat sòdic que també actua com a inhibidor de l'activitat microbiana, ja que actua com un àcid no dissociat, de manera que pot travessar les membranes cel·lulars dels bacteris, acidificant l'interior cel·lular i provocant la seva mort (Pérez-Cantillo et al., 2015). El P12 es basa en l'activitat antimicrobiana d'àcids orgànics, els quals tenen excel·lents propietats antimicrobianes contra bacteris patògens i també redueixen el creixement dels LAB. Les sals sòdiques d'àcids orgànics de baix pes molecular, com ara l'acetat, el lactat i el citrat, s'utilitzen per controlar el creixement microbià, millorar les característiques sensorials i allargar la vida útil de molts productes alimentaris d'origen animal (Sallam, 2017).

L'oxidació dels lípids és deguda a reaccions no-enzimàtiques o catalitzades per enzims microbians o per enzims intracel·lulars o digestives de la pròpia carn (Huss, 1995). L'estudi realitzat per Sallem (2017) va mostrar que l'acetat sòdic, el lactat sòdic i el citrat sòdic, a part d'inhibir el creixement microbià també alenteixen l'oxidació lipídica i augmenten la vida útil en condicions de refrigeració.

De la composició del P9 destaca la presència de maltodextrina, una barreja de polímers de glucosa, que podria ser la responsable de la dolça olor i gust de les hamburgueses elaborades amb aquest preparat.

Tot i que el preparat P3 va resultar ser el que millor conservava el color, a dia 10 de vida útil algunes hamburgueses començaven a mostrar petites taques grises, senyal de deteriorament de la carn. P1 i P2 van resultar ser els preparats més eficients en la conservació de les hamburgueses. Es va decidir continuar un parell de dies més amb l'anàlisi de les característiques sensorials dels preparats P1, P2 i P3 per veure com evolucionaven. El preparat P1 va mostrar resultats correctes fins a dia 13 de vida útil, i el P2 i el P3 fins a dia 12.

Els preparats P4, P7, P8, P10 i P12 van començar a desenvolupar olor a ranci cap a mitjans de la seva vida útil (dia 5-6), això va ser indicador d'oxidació lipídica, la qual augmenta a mesura que augmenta el creixement microbià (Faustman i Cassens, 1990). L'oxidació dels lípids està íntimament relacionada amb l'oxidació dels pigments de la carn, ja que existeix una significativa correspondència entre la formació de MMb i l'acumulació de productes d'oxidació

lipídica. Aquesta relació és deguda a que els radicals lliures produïts durant l'oxidació lipídica actuen directament com a promotors de l'oxidació hemínica i/o indirectament alteren el sistema de reducció dels pigments, provocant que la carn perdi el seu color vermell característic (Renner, 1990). També s'ha vist que l'oxidació dels pigments pot catalitzar l'oxidació lipídica (Gatellier *et al.*, 1995).

Conclusions:

Amb tota aquesta informació, es va decidir profunditzar en el comportament dels preparats P1, P2 i P3 a escala industrial ja que, a part de ser els que millor conserven les hamburgueses, també són els que tenien un millor gust o textura.

5. ESTUDI 1: VIDA ÚTIL DE LES HAMBURGUESES ELABORADES AMB ELS PREPARATS SELECCIONATS

5.1. Disseny i objectiu

Un cop identificats els 3 preparats conservants que millors resultats van mostrar (P1, P2 i P3), es van repetir les anàlisis de l'estudi inicial però amb un nombre major de rèpliques (Taula 6) per validar els resultats d'aquest estudi. Es van elaborar 80 hamburgueses per a cada preparat.

Taula 6. Anàlisis realitzats en funció del dia i nombre de rèpliques utilitzades per un preparat.

Anàlisi	Dies d'anàlisi*	Nº de mostres/dia (rèpliques)
pH	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10	3
Atmosfera		3
Microbiologia	0, 4 i 10	3
Color		3

* Caps de setmana i festius no es van realitzar anàlisis.

A l'igual que en l'estudi previ es va realitzar un seguiment de les canals de les quals provenien els retalls. A més a més, es va realitzar l'anàlisi de la composició de les hamburgueses (% greix, % proteïna, % humitat i % col·lagen).

L'objectiu d'aquest estudi va ser validar els resultats obtinguts en l'estudi previ per poder decidir més acuradament si es procedeix a provar aquests preparats a escala industrial o no.

5.2. Resultats i discussions

5.2.1. Resultats dels preparats P1, P2 i P3

Preparat P1

- **Seguiment contingut de gasos:** en la Taula 1 de l'Annex 4 es pot observar com l'evolució del perfil dels gasos es va mantenir força constant durant tot l'estudi. No obstant, es va detectar una disminució del CO₂, aquesta tendència també es va observar en P2 i P3. Es va detectar que la proporció de gasos injectat per les envasadors ($67,03 \pm 0,47$ O₂; $21,30 \pm 1,25$ CO₂, $11,67 \pm 1,46$ N₂) era molt diferent a la teòrica.
- **pH:** El pH es va mantenir constant durant tot l'estudi (Taula 1 de l'Annex 4).
- **Color:** al llarg dels 10 dies d'estudi es va detectar un descens de gairebé 5 punts del color vermell (a*) i de 2 punts en el groc (b*), no obstant això, el color de les hamburgueses a final de vida útil era molt apte (Taula 1 de l'Annex 4 i Imatge 2).



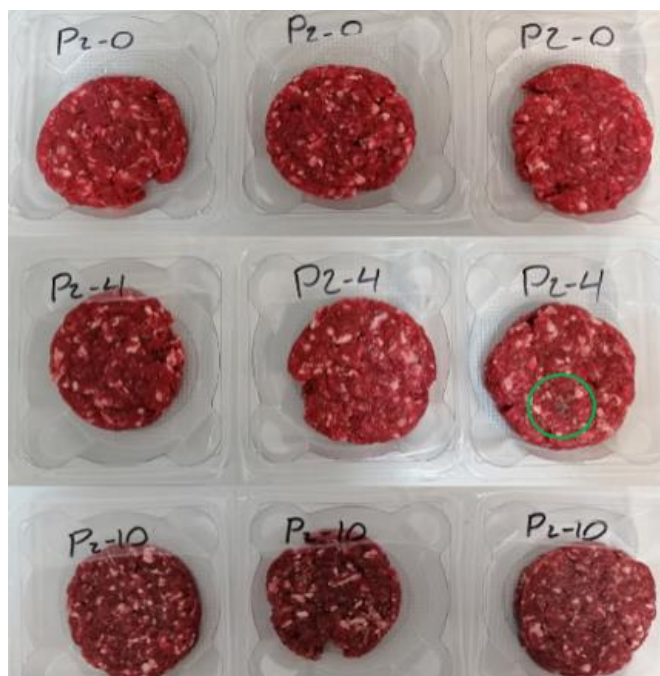
Imatge 2. Fotografies de les hamburgueses elaborades amb el preparat conservant P1 en diferents dies de vida útil. Es pot observar l'evolució del color de les hamburgueses a dia 0, 4 i 10 de vida útil.

- **Microbiologia:** l'anàlisi microbiològica de la canal utilitzada va donar resultats correctes, no obstant les hamburgueses analitzades a dia 0 van donar valors no aptes de mesòfils aerobis, resultats molt diferents als dels dies 4 i 10, que varen ser aptes. L'anàlisi de *Salmonella* a final de vida útil va donar negatiu (Taula 2 de l'Annex 4).

- **Anàlisi sensorial:** L'anàlisi sensorial va donar resultats correctes durant tot l'estudi. No obstant a partir del dia 9 algunes mostres començaven a mostrar petites taques grises. No es van detectar diferències de gust ni textura entre el primer i l'últim dia d'estudi.
- **Anàlisi fisicoquímic:** els resultats obtinguts de l'anàlisi fisicoquímic del P1 es presenten en la Taula 3 de l'Annex 4. Segons les especificacions del departament d'I+D les hamburgueses havien de tenir un 12,5% de greix, no obstant, els resultats obtinguts van ser de 5,99%.

Preparat P2

- **Seguiment del contingut de gasos:** en la Taula 4 de l'Annex 4 es pot observar l'evolució del perfil de gasos durant tot l'estudi, que és va mantenir força constant, a excepció del CO₂ que va anar disminuint. Es va detectar que la proporció de gasos de les barquetes era molt diferent als esperats ($69,8 \pm 0,5$ O₂; $21,9 \pm 0,2$ CO₂; $8,3 \pm 0,3$ N₂).
- **pH:** en la Taula 4 de l'Annex 4 també podem observar l'evolució del pH, el qual es va mantenir molt constant durant tot l'estudi.
- **Color:** al llarg dels 10 dies d'estudi es va detectar un descens del color vermell (a*) i un lleuger augment del groc (b*), no obstant, a dia 10 el color de les hamburgueses encara es podia considerar correcte (Taula 4 de l'Annex 4). En la Imatge 6 es pot observar l'evolució del color de les hamburgueses del P2.
- **Microbiologia:** l'anàlisi microbiològica tant de la canal utilitzada per l'elaboració de les hamburgueses com dels indicadors a dia 0, 4 i 10 van donar resultats correctes (Taula 5 de l'Annex 4). A final de vida útil no es va detectar presència de *Salmonella*.
- **Anàlisi sensorial:** les hamburgueses van conservar el color, l'olor, la textura i el gust durant tot l'estudi. No obstant, a partir del 3r dia es van començar a detectar algunes mostres amb petites taques (Imatge 3, hamburguesa del mig a la dreta). A dia 10 el nombre d'hamburgueses amb taques era força reduït. No es van detectar grans diferències de gust entre el primer i últim dia d'estudi.
- **Anàlisi fisicoquímic:** els resultats obtinguts es veuen representats en la Taula 6 de l'Annex 4. El percentatge de greix obtingut va ser de 7,9%, un valor també inferior a l'esperat segons formulació.



Imatge 3. Fotografies de les hamburgueses elaborades amb el preparat conservant P2 en diferents dies de vida útil: dia 0, 4 i 10.

Preparat P3

- **Seguiment contingut de gasos:** es va observar que la concentració d'O₂ es va mantenir força constant durant tot l'estudi, no obstant, es va detectar un lleuger descens en la concentració de CO₂ durant els primers dies d'estudi (Taula 7 de l'Annex 4). Com en el P1 i el P2, es va detectar que la proporció de gasos de les barquetes era molt diferent als esperats ($66,2 \pm 0,2$ O₂; $21,9 \pm 0,1$ CO₂; $11,9 \pm 0,1$ N₂).
- **pH:** el pH va mostrar un lleuger descens durant els 3 primers dies d'estudi, després es va mantenir força constant (Taula 7 de l'Annex 4).
- **Color:** En la Taula 7 de l'Annex 4 podem observar com el color vermell (a*) es va mantenir força constant durant els 4 primers dies d'estudi, després va mostrar un lleuger descens. No obstant el color groc (b*) va augmentar força en els 4 primers dies i després va disminuir bruscament. En la Imatge 4 es pot observar l'evolució del color del P3 durant els dies d'estudi.
- **Microbiologia:** L'anàlisi microbiològica de la canal utilitzada per l'elaboració de les hamburgueses va donar resultats correctes. Les anàlisis d'indicadors i *Salmonella* de les hamburgueses va donar resultats correctes en tots els dies d'estudi (Taula 8 de l'Annex 4).
- **Anàlisi sensorial:** L'anàlisi sensorial de les hamburgueses crues i cuinades va donar

resultats correctes durant tot l'estudi, no obstant a partir del dia 4 es van començar a detectar algunes hamburgueses amb petites taques (Imatge 7, fotografia del mig a la dreta). A mesura que van passar els dies va augmentar el nombre d'hamburgueses amb taques, sobretot a partir del 10è dia.

- **Anàlisi fisicoquímica:** en la Taula 9 de l'Annex 4 es poden observar els resultats obtinguts en l'anàlisi fisicoquímica del P3. Es pot observar que el percentatge de greix obtingut va ser de 6,35%, força per sota del esperat segons formulació.



Imatge 4. Fotografies de les hamburgueses elaborades amb el preparat conservant P3 en diferents dies de vida útil: dia 0, 4 i 10.

Ni l'evolució del perfil de gasos ni el pH són indicadors d'activitat microbiana en cap dels 3 preparats. Les petites variacions detectades en el perfil de gasos en els 3 preparats són degudes a les envasadores. La disminució de CO₂ a mesura que passaven els dies pot provocar descens del pH (O'Sullivan *et al.*, 2015). No obstant, aquest descens del pH només es va detectar en el P3 durant els 3 primers dies de vida útil, ja que en general es mantenia constant en funció dels dies de vida útil i del preparat. Respecte al color, els 3 preparats van conservar el color vermell de la carn fins a dia 10. El que millor va conservar el color va ser el P3, resultat molt similar a l'obtingut en l'estudi previ (Imatge 5). Els resultats microbiològics, en general, es consideren aptes, no obstant cal destacar que en el P1 a dia 0 el recompte d'aerobis mesòfils va donar resultats no aptes, això va ser degut a que, molt probablement, es va treballar amb aigua de peptona contaminada. L'anàlisi sensorial de les hamburgueses crues i cuinades va donar

resultats correctes en els 3 preparats. No obstant, en el P2 i P3 es va detectar l'aparició de petites taques grises (dies 3 i 4 respectivament). La presència d'aquestes petites taques podia ser deguda a que els conservants no van quedar uniformement repartits per les masses d'hamburgueses o a la contaminació inicial de les canals utilitzades. L'anàlisi fisicoquímica de les hamburgueses elaborades amb els 3 preparats va mostrar sempre un percentatge de greix inferior a l'esperat, això és degut a que els retalls utilitzats tenien un percentatge de greix inferior al que haurien de tenir. La resta de paràmetres de l'anàlisi fisicoquímica van mostrar resultats molt similars, a excepció del contingut en col·lagen del P2, el qual va ser força superior, això és degut a que els retalls utilitzats per l'elaboració de les hamburgueses del P2 tenien una major quantitat de tendrum. Així doncs, podem concloure que els 3 preparats són bons conservants, ja que mantenen el creixement microbià per sota dels límits permesos i eviten l'oxidació dels lípids, ja que conserven el color de les hamburgueses i no es va detectar olor a ranci.



Imatge 5. Fotografies de les hamburgueses elaborades amb el preparat P1, P2 i P3 en diferents dies de vida útil: dia 0, 4 i 10.

Conclusió final: els resultats obtinguts aquest estudi són molt similars als obtinguts en l'estudi previ. Una diferència detectada entre els resultats obtinguts en l'estudi previ i en el present estudi es que el descens del color ha sigut més marcat en les hamburgueses de l'estudi 1 que en les de l'estudi previ. La resta d'anàlisis van donar resultats força similars. Podem afirmar doncs,

que els preparats conservants P1, P2 i P3 funcionen correctament en la conservació de les hamburgueses elaborades a planta pilot fins a uns 10 dies de vida útil.

5.2.2. Anàlisi estadística: Estudi de correlació

Per conèixer les hipotètiques relacions entre les variables es va realitzar un test de correlació entre % CO₂, pH, a* i recompte d'aerobis mesòfils. En la Taula 7 podem observar les correlacions obtingudes pels 3 preparats. Es va detectar que les correlacions significatives detectades eren diferents en funció de cada preparat.

Taula 7. Resultats del test de correlació dels preparats P1, P2 i P3 a planta pilot.

Preparat	Relació	r ²	p-value
P1	CO ₂ vs pH	-0,7438932	0,02156
	CO ₂ vs a*	0,769	0,0153
	CO ₂ vs aerobis	0,8774667	0,001877
	Aerobis vs color	0,6640193	0,05112
P2	CO ₂ vs pH	0,4159	0,2656
	CO ₂ vs a*	0,8047	0,0089
	CO ₂ vs aerobis	-0,2282005	0,5548
	Aerobis vs color	-0,3572266	0,3453
P3	CO ₂ vs pH	0,8036	0,009055
	CO ₂ vs a*	0,28007	0,4654
	CO ₂ vs aerobis	0,3658471	0,3329
	Aerobis vs color	-0,4029822	0,2822

La relació CO₂-pH va ser significativa en el P1 i el P3. En el primer cas es va detectar una correlació negativa de 0,74 i en el segon una positiva de 0,80. Això es pot atribuir a les diferències en quantitat de CO₂ dissolt a la carn en cada cas.

La relació CO₂-a* va ser significativa en el P1 i P2. En els dos preparats es va detectar una correlació positiva de 0,769 i 0,8047 respectivament, les quals coincideixen amb els resultats esperats, ja que el CO₂ és un antimicrobià, de manera que al reduir l'activitat dels bacteris, evita també el deteriorament de la carn conseqüència de la seva presència, de manera que a elevades concentracions de CO₂ menor activitat microbiana i per tant major conservació del color (Sanguinetti *et al.*, 2009).

La relació CO₂-mesòfils va donar una correlació significativa positiva en el P1, que entra en contradicció amb l'esmentat a l'apartat anterior. Al no tenir més rèpliques, no podem saber si aquesta incongruència és deguda a la variabilitat en la dosificació dels gasos.

6. ESTUDI 2: ELABORACIÓ D'HAMBURGUESES A ESCALA INDUSTRIAL

6.1. Disseny i objectiu

Un cop valorats els resultats anteriors, des del departament d'I+D de Roler es van seleccionar els preparats P1 i P2 per realitzar estudis de vida útil a escala d'indústria. De cada preparat es van elaborar 50 Kg de mostres. Es va seguir el mateix procediment que en els estudis anteriors. En la Taula 8 consten el nombre de mostres utilitzades per cada preparat.

Taula 8. Dies d'anàlisi de cada indicador i nombre de mostres analitzades per dia de cada preparat.

Anàlisi	Dies d'anàlisi*	Mostres /dia (rèpliques)
pH	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10	3
Atmosfera		3
Microbiologia	0, 4 i 10	3
Color		3

* Caps de setmana i festius no es van realitzar anàlisis.

L'objectiu d'aquest estudi va ser investigar si els bons resultats obtinguts a petita escala es mantenen a escala industrial. Es van posar a prova els preparats conservants P1 i P2 per veure si eren igualment funcionals a escala industrial.

6.2. Resultats i discussions:

Preparat 1 Fàbrica (P1F):

Es va fer una primera producció (P1F₁) que el departament de I+D va decidir finalitzar abans ja que a dia 2 hi havia moltes hamburgueses amb taques grises, conseqüència de la utilització d'una canal amb una elevada càrrega microbiana. A més a més, a dia 6 el color d'aquestes ja no era apte. És per això que només es disposen de dades de P1F₁ fins a dia 8 i a més es va decidir fer una segona elaboració amb aquest (P1F₂).

- **Contingut de gasos:** En la Taula 1 de l'Annex 5 es pot observar com l'evolució del perfil dels gasos en les dos proves són força similar. Les variacions detectades van ser degudes a les envasadores, les quals no distribueixen la mateixa quantitat de gas en cada cicle. A diferència de en els dos estudis anteriors, es va detectar un augment de la concentració de CO₂ al llarg de l'estudi. Aquest augment va ser degut a les envasadores, les quals van alliberar proporcions de CO₂ i O₂ més elevades que en els estudis anteriors, fet que no és molt coherent, ja que totes les hamburgueses (estudi previ, estudi 1 i estudi 2) van ser

envasades en la mateixa envasadora i amb el mateix programa, de manera que haurien de mostrar resultats més similars.

- **pH:** En la Taula 1 de l'Annex 5 es pot observar com en les dos proves el pH inicial era de 5,62. Tant en P1F₁ com en P1F₂ es va detectar un lleuger augment del pH, més marcat en el P1F₂.
- **Color:** En la Taula 1 de l'Annex 5 es pot observar l'evolució del color de les hamburgueses. En les dues proves es va detectar un marcat descens del color vermell (a*), mentre que el color blau (b*) va disminuir molt suaument. En la Imatge 6 es pot observar que les hamburgueses del P1F₂ eren molt més clares que les del P1F₁, a més, a partir del 6è dia de vida útil les hamburgueses del P1F₂ s'havien tornat molt grises.



Imatge 6. Imatges que mostren l'evolució del color de les hamburgueses de la primera i segona prova del P1 a fàbrica en diferents dies de vida útil: dies 0, 6 i 10.

- **Contingut microbià:** L'anàlisi microbiològica de la canal utilitzada per elaborar les hamburgueses del P1F₁ va mostrar resultats correctes. L'anàlisi d'indicadors a dia 0 va donar resultats erronis en el recompte d'aerobis mesòfils deguts al mal funcionament de la incubadora, no obstant els resultats d'Enterobacteris i *E.coli* van ser correctes. Degut a l'error de la incubadora, es va realitzar un anàlisi d'indicadors a dia 2 de vida útil, obtenint resultats correctes. Les anàlisis microbiològiques de la segona prova (P1F₂) van donar resultats aptes tant en la canal utilitzada com en les hamburgueses (Taula 2 de l'Annex 5).
- **Anàlisi sensorial:** en els dos casos, a partir del segon dia de vida útil es van començar a detectar petites taques grises en les hamburgueses. Les hamburgueses del P1F₁ van mostrar

resultats correctes de l'anàlisi sensorial fins al dia 3 de vida útil, a dia 6 útil la presència de taques era tant evident que es va decidir descartar aquest preparat degut al mal color i, a dia 8 de vida útil les hamburgueses feien molta olor a ranci. En el cas del P1F₂ els resultats van ser molt similars, l'única diferència va ser que la presència d'olor a ranci va aparèixer en el 6è dia de vida útil.

- **Anàlisi fisicoquímica:** Només es van poder obtenir els resultats sobre la composició de les hamburgueses del P1F₂, els quals es veuen representats en la Taula 3 de l'Annex 5. El percentatge de greix obtingut va ser de 23,37, força superior al 12% esperat.

A simple vista no es van detectar grans diferències entre P1F₁ i P1F₂. Les hamburgueses del P1F₁ van mostrar una coloració més fosca. L'evolució del color en els dos casos va ser força similar. Com a conclusió general doncs, podem dir que en ni l'evolució del contingut de gasos ni el pH són indicadors d'activitat microbiana en cap dels casos, mentre que la conservació del color visual va ser molt dolenta, sobretot en les hamburgueses del P1F₂. El fet de que algunes de les hamburgueses comencessin a mostrar taques grises a partir del segon dia de vida útil podia ser degut a que: la canal utilitzada tenia zones més contaminades que altres o, el conservant no va quedar ben repartit per tota la massa, de manera que les zones que no van entrar en contacte amb el conservant son les que es van començar a fer malbé abans.

Podem concloure doncs, que el P1 no es un bon conservant a nivell industrial, ja que tot i no permetre el creixement microbià no es capaç d'evitar l'oxidació lipídica, responsable de la decoloració de la carn i de l'olor a ranci (Renner, 1990).

Preparat 2 Fàbrica (P2F):

- **Contingut de gasos:** En la Taula 4 de l'Annex 5 es pot observar com el contingut de gasos es va mantenir força constant durant tot l'estudi. Com en l'estudi previ i en l'estudi 1, es va detectar un lleuger descens de la concentració de CO₂ degut a la dissolució d'aquest en l'aigua de la carn.
- **pH:** el pH es va mantenir constant durant tot l'estudi (Taula 4 de l'Annex 5).
- **Color:** Entre els dies 0 i 5 es va detectar un marcat descens del color vermell (a*), mentre que el blau (b*) es va mantenir constant. Entre els dies 5 i 9 de vida útil es va detectar un marcat descens del color blau mentre que el vermell és va mantenir constant. No obstant això, el color a final de vida útil encara es podia considerar correcte. (Taula 4 de l'Annex 5 i Imatge 7).

- **Contingut microbià:** l'anàlisi microbiològica de la canal utilitzada per elaborar les hamburgueses del P2F van mostrar resultats correctes, al igual que els resultats obtinguts en les hamburgueses a dia 0, 5 i 9 de vida útil (Taula 5 de l'Annex 5). L'anàlisi de *Salmonella* a dia 9 va donar negatiu.
- **Anàlisi sensorial:** En algunes hamburgueses a partir del segon dia de vida útil es van començar a detectar petites taques grises. A dia 9 la presència de taques en les hamburgueses era molt evident, a més algunes mostres començaven a desenvolupar olor a ranci.
- **Anàlisi fisicoquímica:** els resultats es veuen representats en la Taula 6 de l'Annex 5. Inicialment les hamburgueses van ser formulades per tenir un 12,5% de greix, no obstant, els resultats obtinguts van ser de 18,7 %



Imatge 7. Evolució del color de les hamburgueses del P2F.

Ni l'evolució del contingut de gasos ni el pH són indicadors d'activitat microbiana. Les variacions detectades en el contingut de gasos de les barquetes son deguts a les envasadores. El marcat descens del color vermell entre els dies 0 i 5 va ser degut a una congelació excessiva de la massa de les hamburgueses durant la seva elaboració, fet que va produir que aquestes tinguessin un color molt més pàl·lid que les elaborades a planta pilot, com a conseqüència de la desnaturalització de les proteïnes per el fred (MacDougall, 1982). L'aparició de petites taques en les hamburgueses en els primers dies d'estudi es deguda a les canals utilitzades, les quals

tenien zones contaminades. L'anàlisi de la composició de les hamburgueses va mostrar que el seu contingut de greix era de 18,7% en front del 12 % establert per formulació.

Podem concloure doncs que, el P2 a nivell industrial permet conservar el color de la carn força bé, evita el creixement de microorganismes i evita l'oxidació dels lípids almenys fins a dia 9 de vida útil. No obstant, al tractar-se d'un preparat sense sulfits es molt important la qualitat de la primera matèria amb la que es treballarà, ja que si no és de molt bona qualitat apareixeran les taques detectades al llarg de l'estudi.

Correlació

Per tal de determinar l'existència d'alguna relació entre les variables es va realitzar un test de correlació entre % CO₂, pH, a* i nombre d'aerobis mesòfils. Els resultats obtinguts es veuen en la Taula 9.

Taula 9. Resultats del test de correlació dels preparats P1 i P2 a escala industrial.

Preparat	Relació	r	p-value
P1F₂	CO ₂ vs pH	0,7320036	0,0001619
	CO ₂ vs a*	-0,9099433	0,0006602
	O ₂ vs a*	0,79346	0,0107
	CO ₂ vs aerobis	0,2051182	0,5965
	Aerobis vs a*	-0,4472239	0,2274
P2F	CO ₂ vs pH	-0,7092642	0,03237
	CO ₂ vs a*	0,7615782	0,0171
	O ₂ vs a*	0,7109848	0,03177
	CO ₂ vs aerobis	-0,4827569	0,1881
	Aerobis vs a*	-0,1367843	0,7257

En la Taula 9 podem observar que les variables que mostren una correlació significativa són les mateixes en P1F₂ que en P2F: CO₂ vs pH, CO₂ vs a* i O₂ vs a*.

La relació CO₂-pH va ser significativa en el P1F₂ i el P2F. En el primer cas es va detectar una correlació positiva de 0,73 i en el segon una negativa de 0,71. Com en l'estudi 1, això es pot atribuir a les diferents quantitats de CO₂ dissolt a la carn en cada cas.

La relació CO₂-a* va ser significativa en els dos preparats. En P1F₂ es va detectar una correlació negativa de 0,91 i en P2F una positiva de 0,76. El CO₂ té propietats antimicrobianes, de manera que a concentracions elevades provocarà una major inactivació dels microorganismes, i en conseqüència més intens hauria de ser el color vermell (Sanguinetti *et al.*, 2009).

La relació O₂-a* va mostrar una correlació positiva en els dos preparats, resultat esperat, ja que quan major sigui la concentració d'O₂ més vermella serà la carn (MOCON Europe, 2012), és a dir, una correlació positiva.

6.2.1. Comparació entre els resultats obtinguts per P1, P2, P1F₂ i P2F

Disseny de blocs a l'atzar:

Es va realitzar un disseny de blocs a l'atzar pels preparats P1 i P2 (per l'estudi estadístic del preparat 1 es van utilitzar les dades del P1F₂, ja que el P1F₁ no estava complet). L'objectiu era determinar si el tipus d'elaboració i el dia d'anàlisi tenien alguna influència en els valors de vermell i pH. Els resultats obtinguts es poden observar en la Taula 10.

Taula 10: Resultats obtinguts del Disseny de blocs a l'atzar. Suposicions(indica el compliment de la normalitat i la homogeneïtat de variàncies), Model lineal, la Taula ANOVA i els resultats del test HSD (mitjana de cada preparat, lletres diferents indiquen valors diferents).

Preparat	Variable resposta	Suposicions	Model lineal	Taula d'ANOVA	Test HSD
P1	a*	Sí	Residual S.E.: 2.107 r ² : 0.8461	Pr(>F) Dia 0.00001691 *** Preparat 0.0002491 ***	P1 16.53922 a P1F 11.70600 b
P1	pH	Sí	Residual S.E.: 0.01793 r ² : 0.9332	Pr(>F) Dia 0.000044015162*** Preparat 0.000000006891 ***	P1F 5.683333 a P1 5.579444 b
P2	a*	Sí	Residual S.E.: 1.313 r ² : 0.909	Pr(>F) Dia 0.00000006066 *** Preparat 0.08003 .	P2F 19.88256 a P2 18.71467 a
P2	pH	Sí	Residual S.E.: 0.01555 r ² : 0.3564	Pr(>F) Dia 0.1191 Preparat 0.1177	P2 5.838889 a P2F 5.826667 a

- Els resultats obtinguts en el P1 van indicar que el tipus d'elaboració i els dies de vida útil afecten al color vermell, també es va detectar que el color vermell obtingut a planta pilot i fàbrica eren diferents. En el cas del pH es va detectar que el tipus d'elaboració i els dies de vida útil l'afecten. Al realitzar el test d'HSD es va veure que els valors de pH obtinguts entre fàbrica i planta pilot eren diferents.
- En el cas del preparat P2 es va veure que el color vermell només es veia afectat pels dies de vida útil. També es va detectar que no hi havia diferències significatives entre els valors de vermell obtinguts a fàbrica i planta pilot (Imatge 8). Es va detectar que el pH no es va veure afectat ni pel tipus d'elaboració ni pels dies de vida útil. A més, els pH obtinguts a fàbrica i planta pilot eren iguals.



Imatge 8. Registre fotogràfic de les hamburgueses dels preparats conservants P1 i P2 elaborades a planta pilot i a fàbrica a dies 0, 4-5 i 9-10 de vida útil.

En aquest estudi s'ha pogut comprovar l'efecte que té la temperatura de refredament de la massa de carn sobre les propietats conservants dels preparats seleccionats. Aquesta és la principal diferència entre l'elaboració d'hamburgueses a escala industrial i planta pilot, que és molt més elevada a l'elaborar hamburgueses a planta pilot, degut a la manipulació i a que no es disposa d'un sistema de refredament que refredi la massa mentre es pica la carn i es fan les hamburgueses. La temperatura mitjana a dia 0 de les hamburgueses elaborades a planta pilot va ser de 10,9 °C i la de les de la fàbrica de 3 °C, aquesta diferència és la responsable de que les mostres elaborades a escala industrial fossin una mica més clares. Un altre fet que explica les diferències de color detectades entre P1 i P1F₂ és la quantitat de grassa de les hamburgueses, ja que en el P1 era de 5,99% i en el P1F₂ de 22,37%, no obstant aquesta teoria queda descartada, ja que en el cas de P2 i P2F els percentatges de greix són 7,78 i 18,7 respectivament i l'anàlisi estadístic no va detectar diferències en el color vermell.

Aquests resultats suggereixen que el preparat P1 és més sensible a les baixes temperatures que el P2, ja que tot i que la massa per fer les hamburgueses del P2F va patir una congelació més elevada, aquestes van aconseguir arribar a una vida útil de 10 dies, mentre que les del P1F (P1F₁ i P1F₂) no arribaven ni als 4 dies de vida útil. La principal diferència que existeix entre el conservant P1 i el P2 és el lactat, el qual és present en el P1 però no en el P2. Això fa pensar que el lactat es veu afectat per la temperatura de refredament de la massa, ja que a planta pilot els resultats obtinguts de P1 eren molt bons, i en fàbrica no.

7. ESTUDI 3: CHALLENGE TEST

7.1. Disseny i objectiu

La microbiologia predictiva és l'estudi dels processos a través dels quals els microorganismes creixen o s'inactiven, i com afectaran a la seguretat dels aliments (Buchanan i Whiting, 1996), definint les prediccions de creixement o mort sota condicions específiques (temperatura, pH, gasos, etc.) (Schaffner i Labuza, 1997; Whiting i Buchanan, 1994; Zwietering *et al.*, 1990). La microbiologia predictiva es basa en l'ús de models matemàtics que permeten estimar la cinètica de creixement microbià.

Un Challenge test és un estudi que es du a terme per determinar el comportament d'un microorganisme artificialment inoculat en un aliment i en unes condicions d'emmagatzematge determinades. Els challenge test serveixen per:

- Avaluar el potencial de creixement dels patògens (Log final-Log inicial).
- Estimar els paràmetres de creixement (velocitat màxima, fase lag,...).

L'objectiu d'aquest estudi va ser realitzar un Challenge test predictiu per *Listeria monocytogenes* i *Salmonella* per tal d'avaluar la possibilitat de creixement d'aquests microorganismes en carn picada fresca.

7.2. Material i mètodes

Per dur a terme el Challenge test es va utilitzar el programa informàtic ComBase, un repositori de dades on-line que descriu la supervivència i el creixement de diferents microorganismes patògens en diferents condicions ambientals. ComBase conté milers de corbes de creixement i supervivència microbianes que descriuen l'efecte de les diferents condicions d'emmagatzematge i processament d'aliments en el creixement bacterià, i ofereix una resposta de com els bacteris reaccionen a canvis de temperatura, pH, activitat d'aigua, etc en diferents condicions (www.combase.cc).

Els microorganisme escollits van ser *L. monocytogenes* i *Salmonella*, ja que són els patògens més resistents que poden afectar aquest tipus de productes. Els valors de pH, CO₂ i a_w provenien dels resultats propis (Taula 11). L'estat físic es va deixar el valor facilitat per l programa. L'estat fisiològic pot prendre valors entre 0 i 1 i està relacionat amb la fase Lag o fase de latència. Valors pròxims a 1 indiquen que el microorganisme es multiplica immediatament sense fase Lag.

El reglament 2073/2005 estableix que a dia 0 de vida útil s'ha de detectar absència de *L. monocytogenes* en 25 g de mostra (<1 ufc/25 g) i el màxim permès és de 100 ufc/g a final de vida útil. Per dur a terme l'estimació del creixement de *L. monocytogenes* es va considerar que el nivell inicial de microorganismes presents en la mostra era de 0 log ufc/g, és a dir, 10^0 (=1), de manera que en 25 g de mostra hi hauran 0,04 ufc (1 ufc/25 g). El logaritme de 0,04 (en valor absolut) és 1,40, per tant, a dia 0 hi hauran com a màxim 1,4 log ufc/g. Tenint en compte això i que el màxim d' ufc/g permesos a final de vida útil és 100 (logaritme de 100 és 2), es va decidir que quan la concentració de microorganismes arribes a 3,4 (1,4+2) es marcaria el final de vida útil. En aquest reglament també s'estableix que a dia 0 i a final de vida útil s'ha de detectar absència de *Salmonella* en 25 g (<1 ufc/g), de manera que quan s'arribi a una concentració de 1,4 ufc/g es marcarà el final de vida útil.

Taula 11. Valors utilitzats a ComBase per realitzar la predicció de creixement de *L. monocytogenes* y *Salmonella*.

	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i>
Concentració inicial (Log₁₀)	0,04	0,04
Estat fisiològic	$2.1 \cdot 10^{-2}$	$3.7 \cdot 10^{-2}$
Temperatura (°C)	Taula dinàmica fins a un màxim de 7	7
pH	5,7	5,7
a_w	0,978	0,978
CO₂ (%)	12	12

El reglament 2073/2005 estableix que a dia 0 de vida útil s'ha de detectar absència de *L. monocytogenes* en 25 g de mostra (<1 ufc/25 g) i el màxim permès és de 100 ufc/g a final de vida útil. Per dur a terme l'estimació del creixement de *L. monocytogenes* es va considerar que el nivell inicial de microorganismes presents en la mostra era de 0 log ufc/g, és a dir, 10^0 (=1) ufc/g, de manera que en 25 g de mostra hi hauran 0,04 ufc (1/25). El logaritme de 0,04 (en valor absolut) és 1,40, per tant, a dia 0 hi hauran com a màxim 1,4 log ufc/g. Tenint en compte això i que el màxim d' ufc/g permesos a final de vida útil és 100 (logaritme de 100 és 2), es va decidir que quan la concentració de microorganismes arribes a 3,4 (1,4+2) es marcaria el final de vida útil. En aquest reglament també s'estableix que a dia 0 i a final de vida útil s'ha de detectar absència de *Salmonella* en 25 g (<1 ufc/g), de manera que quan s'arribi a una concentració de 1,4 ufc/g es marcarà el final de vida útil.

7.3. Resultats i discussió:

Predicció de creixement de *L. monocytogenes* i *Salmonella*:

En l'apartat A de la Figura 6 es pot observar la corba de creixement de *L. monocytogenes* obtinguda a ComBase sota les condicions determinades en la Taula 11. El temps que trigarà aquest microorganisme a arribar a una concentració de 3,4 log ufc/g serà de 354,573 hores (15 dies). De manera que el temps de vida útil vindria a ser d'uns 15 dies. En l'apartat B de la Figura 6 es pot observar la corba de creixement de *Salmonella* sota les condicions establertes en la Taula 11. Els resultats obtinguts suggereixen que, en aquestes condicions el temps que trigaria *Salmonella* a arribar a una concentració de 1,4 log ufc/g seria de 406,2 hores (17 dies). De manera que el temps de vida útil seria d'uns 17 dies.

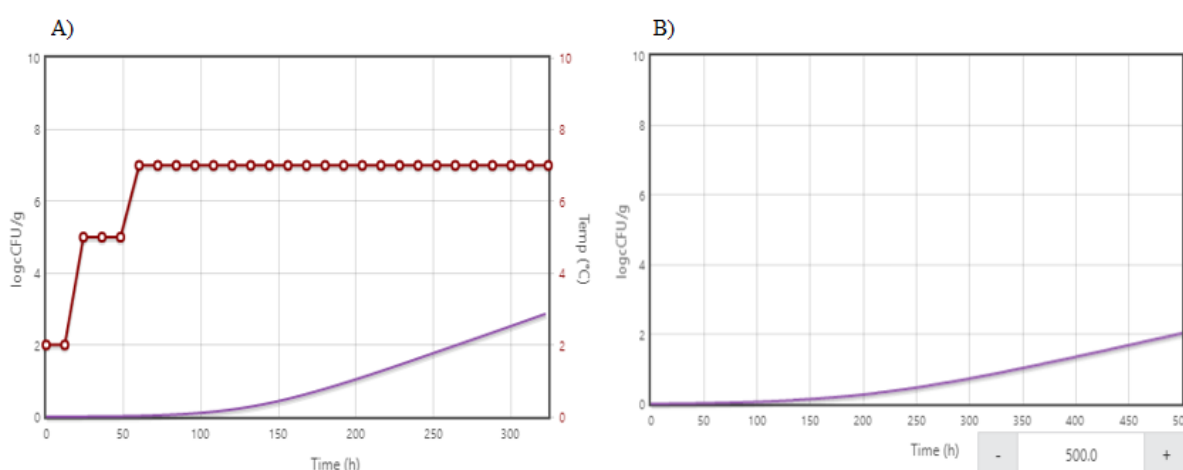


Figura 6. Corbes de creixement de *L. Monocytogenes* i *Salmonella*. A) Evolució de la temperatura, en vermell (°C), i en lila el creixement de *L. monocytogenes*. B) creixement de *Salmonella*.

Tenint en compte els temps de vida útil obtinguts (*L. monocytogenes* = 15 dies i *Salmonella* = 17 dies) i que les condicions extrínseques i intrínseques de l'aliment són les mateixes, podem dir que el temps de vida útil d'aquest producte seria d'uns 15 dies i vindria determinat per *L. monocytogenes*, ja que dels dos és el que més ràpid arribaria als màxims permesos segons el reglament 2073/2005. No obstant, el programa ComBase no disposa de corbes de creixement per aerobis mesòfils, de manera que s'hauria de buscar alguna manera de determinar el creixement d'aquests en aquestes condicions, ja que podrien provocar un temps de vida més curt.

8. CONCLUSIONS

- Dels 12 preparats conservants analitzats només 4 van resultar ser aptes. La característica comuna d'aquests 4 preparats era que tots provenien de derivats de l'àcid acètic.
- Els resultats de l'estudi de vida útil dels preparats P1 i P2 a escala industrial van mostrar que el tipus d'elaboració (planta pilot o fàbrica) és un factor molt important a tenir en compte en la selecció dels ingredients per a nous ingredients, ja que les temperatures de refredament de la massa de carn no són les mateixes a planta pilot que a fàbrica, i com s'ha pogut observar, aquesta afecta la funcionalitat dels preparats, i en conseqüència als dies de vida útil dels productes.
- Una diferència detectada en els estudis 1 i 2 va ser el percentatge de greix, ja que tot i utilitzar sempre les mateixes fórmules, el percentatge de les hamburgueses elaborades a planta pilot sempre era inferior al establert per formulació i el de les de fàbrica superior.
- Dels preparats estudiats a escala industrial només P2 va mostrar resultats correctes. Això va ser degut al fet que aquest preparat suporta millor les baixes temperatures durant l'elaboració de les hamburgueses a fàbrica. També es va detectar que el percentatge de greix de les hamburgueses del P2F era més baix que les del P1F, motiu que també explicaria perquè les del P2 van tenir un temps de vida superior.
- L'anàlisi estadístic va permetre comprovar l'existència de diferències entre els valors de pH i color vermell en funció de si les hamburgueses havien estat elaborades a planta pilot o a fàbrica. En el P1 es va detectar que dia d'anàlisi i tipus de tractament afecten els valors de pH i vermell, a més, aquests valors eren diferents entre planta pilot i fàbrica. En el P2, en el cas del color vermell es va veure que aquest només es veu afectat pels dies de vida útil, mentre que pH no és afectat ni per tipus d'elaboració ni dies de vida útil. El test HDS va permetre comprovar que els valors obtinguts de pH i vermell entre P2 i P2F eren iguals.

9. BIBLIOGRAFIA

- Auqui, S. M. (2014). *Estrategias productivas y alimentarias para mejorar la calidad de la canal y de la carne de chato murciano* (Tesis doctoral). Universitat de Murcia, Espanya. Recuperat de l'URL: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/277256/TSMAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- bioMerieux Espanya S.A. (2018). *mini VIDAS*. Recuperat de l'adreça URL: https://www.biomerieux.es/diagnostico-clinico/productos/mini-vidasr#Equipo%20compacto_0_0
- Boakye, K., i Mittal, G.S. (1996). Changes in colour of beef M. Longissimus dorsi muscle during ageing, *Meat Science*, 42, 347-354. Doi: [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(95\)00025-9](https://doi.org/10.1016/0309-1740(95)00025-9)
- Bonhomme, J. i Renerre, M. (1991). Effects of electrical stimulation, boning-temperature and conditioning mode on display colour of beef meat. *Meat Science*, 29, 191-202. Doi: [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(91\)90048-U](https://doi.org/10.1016/0309-1740(91)90048-U)
- Buchanan, R. L., Whiting, R. C. 1996. Risk Assessment and Predictive microbiology. *Journal of Food Protection*. Supplement: 31-36.
- Faustman, C. i Cassens, R.G. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat: a review, *Journal of Muscle Food*, 1, 217-243. Doi: 10.1111/j.1745-4573.1990.tb00366.x
- Gatellier, P., Anton, M., i Renerre, M. (1995). Lipid peroxidation induced by H₂O₂-activated metmyoglobin and detection of a myoglobin-derived redical, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 651-656. Doi:10.1021/jf00051a018
- Goenaga, I. (2010). *Estabilidad del color de la carne de ternera*. (Treball de fi de Grau, Universidad Pública de Navarra, Navarra). Recuperat de: <https://academica-e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/2204/577254.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. (5 març 2019)
- Grant, A. Q., i Parveen, S. (2017). All natural and clean-label preservatives and antimicrobial agents used during poultry processing and packaging, *Journal of food protection*, 80, 540-544. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00246-4>
- Hardin, M.D. (2014). Decontamination of Processed Meat. En Dikeman, M. i Devine, C. (ed), *Encyclopedia of Meat Sciences* (2a edició, 280-284). Doi: 10.1016/B978-0-12-384731-7.00246-4.
- Hernández, B. (1994). *Estudio del color en carnes: caracterización y control de calidad* (Tesis doctoral no publicada). Universitat de Zaragoza, Espanya.
- Höll L., Behr J. i Vogel R.F. (2016). Identification and growth dynamics of meat spoilage microorganisms in modified atmosphere packaged poultry meat by MALDI-TOF MS, *Food microbiology*, 60, 84-91. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2016.07.003>
- Huss, H.H. (Ed.) (1995). Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper No. 348, Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome, Italy.

- International Food Information Service. (2005). *Dictionary of food science and technology*. Recuperat de l'adreça URL: <http://file.qums.ac.ir/repository/vct/nutrition/%D8%A2%D9%85%D9%88%D8%B2%D8%B4%D9%8A/%D9%83%D8%AA%D8%A8%20%D9%85%D8%B1%D8%AC%D8%B9/Dictionary%20of%20food%20science%20and%20technology.pdf>
- Jayasingh, P., Cornforth, D.P., Carpenter, C.E. i Whittier D. (2001). Evaluation of carbon monoxide treatment in modified atmosphere packaging or vacuum packaging to increase color stability of fresh beef, *Meat Science*, 59, 317-324.
- Klicast, D. (2008). Sensory quality and consumer acceptability. En Brown, M. (ed.), *Chilled Foods: A Comprehensive Guide* (3ra edició, 599-619). Doi: <https://doi.org/10.1533/9781845694883.4.599>
- Koricanac, V., Vranic, D., Trbovic, D., Petronijevic, R., i Parunovic, N. (2017, September). Presence of sulphites in different types of partly processed meat products prepared for grilling. *59th International Meat Industry Conference*, 85 (1), p. 012067). Doi: 10.1088/1755-1315/85/1/012067
- Lawrie, R.A. (1985). *Meat Science*. (7a ed.). Oxford: Pergamon Press. Recuperat de l'adreça URL: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpLMSE0004/lawries-meat-science/lawries-meat-science>
- Lawley, R., Curtis, L., i Davis, J. (2012). *The food safety hazard guidebook*. Recuperat de l'adreça URL: <https://pubs.rsc.org/en/content/ebook/978-1-84973-381-6>
- MacDougall, D.B. (1982). Changes on the colour and opacity of meat, *Food Chemistry*, 9, 75-88. Doi: [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(82\)90070-X](https://doi.org/10.1016/0308-8146(82)90070-X)
- Matthews K., Kniel K.E. i Montville T.J. (2017). Indicator Microorganisms and Microbiological Criteria. A: Food Microbiology - An Introduction (4a. edició) (99-117). American Society for Microbiology (ASM). <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpFMAIE017/food-microbiologyan/food-microbiology-an>
- MOCON Europe. (2012). *Envasado en atmósfera protectora*. Recuperat de l'adreça URL: <https://www.atmosferaprotectora.es/>
- Moore, V.J. i Young, O.A. (1991). The effects of electrical stimulation, thawing, ageing and packaging on the colour and display life of lamb chops, *Meat Science*, 30, 131-145. Doi: [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(91\)90003-9](https://doi.org/10.1016/0309-1740(91)90003-9)
- Neogen Corporation. (s.d.). *Sistema y viales Soleris*. Recuperat de l'adreça URL: <https://foodsafety.neogen.com/sp/soleris>
- Nychas, G. J. E., Skandamis, P. N., Tassou, C. C., i Koutsoumanis, K. P. (2008). Meat spoilage during distribution, *Meat science*, 78, 77-89. Doi: 10.1016/j.meatsci.2007.06.020
- O'Sullivan, M. G., Le Floch, S., i Kerry, J. P. (2015). Resting of MAP (modified atmosphere packed) beef steaks prior to cooking and effects on consumer quality, *Meat science*, 101, 13-18. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.10.030>

Parra, V., Viguera, J., Sánchez, J., Peinado, J., Espárrago, F., Gutiérrez, J. I., i Andrés, A. I. (2010). Modified atmosphere packaging and vacuum packaging for long period chilled storage of dry-cured Iberian ham, *Meat Science*, 84, 760-768. Doi: 10.1016/j.meatsci.2009.11.013

Pérez-Cantillo, W., Acevedo-Correa, D., Tirado-Armesto, D. F., Gallo-García, L. A., i Montero-Castillo, P. M. (2015). Evaluación del lactato de sodio como sustituto de los nitritos convencionales en las salchichas del pez sable. *TecnoLógicas*, 18(35), 117-124. DOI: <https://doi.org/10.22430/22565337.193>

Real Decret N°474/2014, 13 de Juny del 2014, pel qual s'aprova la norma de qualitat de derivats carnis

Reglament (CE) N°2073/2005 de la comissió de 15 de Novembre de 2005 relatiu als criteris microbiològics aplicables als productes alimentaris (DO L 338 de 22.12.2005)

Reglament (CE) N° 853/2004 del Parlament Europeu i del Consell, del 29 de abril de 2004, per el que s'estableixen normes específiques d'higiene dels aliments d'origen animal, DOUE 139§ 55 a 205 (2004).

Reglament (CE) N° 1334/2008 del Parlament Europeu i del Consell, del 16 de desembre de 2008, sobre les aromes i determinats ingredients amb propietats aromatitzants utilitzades en els aliments i per el qual es modifica el Reglament (CEE) N° 1601/91 del Consell, els Reglaments (CE) N° 2232/96 i (CE) N° 110/2008 i la Directiva 2000/13/CE.

Renner, M. (1990). Review: Factors involved in the discolouration of beef meat. *International Journal of Food Science Technology*, 25, 613-630. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb01123.x>

Roler Espanya S.I. (2018). *Roler*. Recuperat de l'adreça URL: <http://www.roler.es/>

Rossaint S., Klausmann S. i Kreyenschmidt J. (2015). Effect of high-oxygen and oxygen-free modified atmosphere packaging on the spoilage process of poultry breast fillets. *Poultry science*, 94, 96-103. Doi: 10.3382/ps/peu001

Sallam, K. I. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control*, 18(5), 566-575.

Sanguinetti, A. M., Secchi, N., Del Caro, A., Stara, G., Roggio, T., i Piga, A. (2009). Effectiveness of active and modified atmosphere packaging on shelf life extension of a cheese tart. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1192-1198. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01943.x>

Schaffner, D. W. i Labuza, T. P. (1997). Predictive microbiology: Where are we, and where are we going. *Food Technology*. 51(4): 95-99.

Singhal, R. S., Kulkarni, P. K., & Reg, D. V. (Eds.). (1997). *Handbook of indices of food quality and authenticity*. Elsevier: Woodhead Publishing. Recuperat de l'adreça URL: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpHIFQA00Q/handbook-indices-food/handbook-indices-food>

University of Tasmania i USDA. (2019). *ComBase*. Recuperat de l'adreça URL: <https://www.combase.cc/index.php/es/>

- Whiting, R. C., Buchanan, R. L. (1994). Microbial Modeling. *Food Technology*. 48(6):113-120
- Yang X., Zhang Y., Zhu L., Han M., Gao S. i Luo X. (2016). Effect of packaging atmospheres on storage quality characteristics of heavily marbled beef longissimus steaks. *Meat science* 117, 50-56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.030>
- Zwietering M. H., Jongenburger I., Rombouts, F. M., Van't Riet K., (1990). Modelling of the bacterial growth curve. *Applied Environment Microbiology* 56: 1875–1881.

10. ANNEXOS

Annex 1: Anàlisi microbiològica: Indicadors i *Salmonel·la*

Preparació de les mostres (Indicadors i *Salmonel·la*):

1. Col·locar sobre el pinch dilutor l'aigua de peptona per a que s'atemperi.
2. Rotular les bosses per una correcta identificació i introduir-les en el suport plàstic de la bàscula.
3. Tarar la bossa de plàstic estèril.
4. Introduir de manera asèptica 10 g de mostra (representatiu de tota la mostra).
5. Prémer el boto X de la bàscula per a que la màquina deixi anar la quantitat de medi de cultiu necessària per obtenir una suspensió mare de factor de dilució 1:10.
6. Col·locar la bossa en el Stomacher durant 15 s en programa normal per barejar la mostra.

Indicadors. Sembra de les mostres:

S'ha de treballar sempre en condicions estèrils.

1. Definir l'ordre de sembra (TVC, Enterobacteriaceae i *E. Coli*) i col·locar els tubs dels diferents medis de cultiu, prèviament rotulats, en el suport i sembrar: **Mesòfils totals 2 mL; Enterobacteries 5 mL i *E. Coli* 5 mL.**
2. Identificar cada tub en el programa informàtic de la incubadora segons l'ordre de sembra.
3. Agitar els tubs i col·locar-los en la incubadora segons l'ordre establert. En el calaix superior (35 °C) es col·loquen els tubs de mesòfils i enterobacteriàcies, i en l'inferior (44,5 °C) els d'*E. Coli*.
4. Deixar corre la màquina durant un dia.

***Salmonel·la*. Sembra de les mostres:**

- 1 Afegir 0,4 mL del suplement selectiu *Salmonel·la* a la bossa amb la mostra diluïda en aigua de peptona.
- 2 Incubar la bossa en l'estufa durant 16-20 hores a $42^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- 3 Sembrar 0,5 mL de la mostra en el peuet del cartutx d'SPT.
- 4 Tamisar la mostra col·locant el cartutx en l'equip "Heat and go" durant 5 minuts. Passats els 5 minuts treure el cartutx i deixar-lo refredar 10 minuts.
- 5 Col·locar el cartutx en l'equip MiniVidas, identificar cada mostra i iniciar la lectura. La

lectura dura 48 minuts.

Si el resultat són positiu s'ha de confirmar a través d'un cultiu en placa.

1. Agafar una mica de la mostra amb una nansa de Kolle esterilitzada.
2. Sembrar en estries per aïllar colònies en la placa Chromo ID Salmonella.
3. Incubar durant 24 h a $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
4. Observar les colònies per determinar si són *Salmonella*. Si són de *Salmonella* han de tenir un color rosa pàl·lid.

Annex 2. Ingredients de les hamburgueses

Taula 1. *Proporció d'ingredients utilitzats en l'elaboració dels diferents preparats de carn.*

Tipus de preparat	Ingredients		Tipus de preparat	Ingredients	
	Comuns	Característics		Comuns	Característics
P1	89% retall vermell 5% retall rosa 1,2% sal 1% Extensan 8483R	3,1% aigua 0,65% P1	P7	89% retall vermell 5% retall rosa 1,2% sal 1% Extensan 8483R	3,1% aigua 0,65% P7
P2	89% retall vermell 5% retall rosa 1,2% sal 1% Extensan 8483R	3% aigua 0,75% P2	P8	90% retall vermell 5% retall rosa 1% Extensan 8483R	3,7% aigua 0,3% P8*
P3	89% retall vermell 5% retall rosa 1,2% sal 1% Extensan 8483R	3% aigua 0,75% P3	P9**	89% retall vermell 5% retall rosa	3% aigua 3% P9*
P4	89% retall vermell 5% retall rosa 1,2% sal 1% Extensan 8483R	2,3% aigua 1,5% P4	P10**	89% retall vermell 5% retall rosa	2,8% aigua 3,2% P10*
P5	89% retall vermell 5% retall rosa 1,2% sal 1% Extensan 8483R	2,3% aigua 1,5% P5	P11	89% retall vermell 5% retall rosa 1,2% sal 1% Extensan 8483R	2,4% aigua 1,4% P11
P6	89% retall vermell 5% retall rosa 1,2% sal 1% Extensan 8483R	3,1% aigua 0,65% P6	P12	89% retall vermell 5% retall rosa 1,2% sal 1% Extensan 8483R	3,6% aigua 0,2% P12

* El preparat ja conté sal i no és necessari afegir-ne. ** No conté Extensan 8483R perquè el preparat ja conté fibra.

Annex 3: Resultats estudi previ

Taula 1. Resultats de les mostres del P1.

Preparat 1															
Dia anàlisi	Gasos (%)			pH	Color			Microbiologia							
	O ₂	CO ₂	N ₂		L*	a*	b*	Entero (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	67,8	21,2	11	5,87	37,84	21,49	14,36	430	apte	4,51	apte	0	apte		
3	73,8	19,9	6,3	5,94											
4	67,3	19,2	13,5	5,97	38,97	20,42	16,31	<10	apte	3,7	apte	0	apte		
5	70,5	19,8	9,7	5,81											
6	67,4	18,7	13,9	5,97											
7	67,9	18,8	13,3	6,28											
10	66	18,5	15,5	5,94	36,82	18,57	15,48	0	apte	3,6	apte	0	apte	negatiu	apte

Taula 2. Resultats de les mostres del P2.

Preparat 2															
Dia anàlisi	Gasos (%)			pH	Color			Microbiologia							
	O ₂	CO ₂	N ₂		L*	a*	b*	Entero (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	68,6	22,3	9,1	6,33	37,99	22,05	15,69	15	apte	5,86	apte	0	apte		
3	73,5	19,1	7,4	6,28											
4	67,8	20	12,2	6,06	37,42	22,77	16,08	<10	apte	3,51	apte	0			
5	69,5	19,5	11	5,89											
6	67,9	19,8	12,3	5,96											
7	68,9	20,2	10,9	6,31											
10	67,3	21,3	11,4	6,25	37,9	18,3	15,1	<10	apte	4,26	apte	0	apte	negatiu	apte

Taula 3. Resultats de les mostres del P3.

Preparat 3															
Dia anàlisi	Gasos (%)			pH	Color			Microbiologia							
	O ₂	CO ₂	N ₂		L*	a*	b*	Entero (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	68,7	22	9,3	6,3	37,24	22,9	14,88	21	apte	5,66	apte	0	apte		
3	72,8	19,3	7,9	5,95											
4	68,2	20,6	11,2	5,64	36,58	21,41	15,61	<10	apte	3,76	apte	0	apte		
5	69,5	20,1	10,4	5,87											
6	69,8	20,4	9,8	6,15											
7	69,8	19,1	11,1	6,56											
10	67,2	19,7	13,1	6,26	35,8	21,06	16,36	<10	apte	4,15	apte	0	apte	negatiu	apte

Taula 4. Resultats de les mostres del P4.

Preparat 4															
Dia anàlisi	Gasos (%)			pH	Color			Microbiologia							
	O ₂	CO ₂	N ₂		L*	a*	b*	Entero (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	74,1	21,7	4,2	5,61	38,32	20,2	16,73	0	apte	2,6	apte	0	apte		
1	68,2	18,3	13,5	5,65											
2	67,9	18,4	13,7	5,58											
3	69,4	19,2	11,4	5,78											
4	67,7	18,3	14	5,97	38,34	14,9	15,12	0	apte	4,11	apte	0	apte		
7	65,3	16,2	18,5	5,64											
8	65,7	14,3	20	5,66											
9	67,6	18,8	13,6	5,42											
10	67,5	17,8	14,7	5,63	37,41	6,96	13,9	0	apte	7,83	No apte	0	apte	negatiu	apte

Taula 5. Resultats de les mostres del P5.

Preparat 5															
Dia anàlisi	Gasos (%)			pH	Color			Microbiologia							
	O ₂	CO ₂	N ₂		L*	a*	b*	Entero (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	74,8	21,7	3,5	5,78	36,43	23,6	16,59	<10	apte	5,46	apte	0	apte		
1															
2	68,3	17,9	13,8	5,64											
3	69,4	17,1	13,5	5,94											
4	68,3	18,8	12,9	6,11	37,21	17,91	14,83	<10	apte	3,15	apte	0	apte		
7	67,4	18,3	14,3	5,75											
8	66,9	16,6	16,5	5,8											
9	68,3	18,2	13,5	5,59											
10	67,8	17,3	14,9	5,76	36,47	13,56	13,44	<10	apte	6,77	No apte	0	apte	negatiu	apte

Taula 6. Resultats de les mostres del P6.

Preparat 6															
Dia anàlisi	Gasos (%)			pH	Color			Microbiologia							
	O ₂	CO ₂	N ₂		L*	a*	b*	Entero (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	74,1	21,9	4	5,98	38,88	21,52	16,18	0	apte	3,76	apte	0	apte		
1	67,5	16,1	16,4	5,95											
2	69,2	17,6	13,2	5,85											
3	69,6	17,6	12,8	6,14											
4	68,7	19,1	12,2	6,39	35,74	21,25	15,6	0	apte	3,85	apte	0	apte		
7	66,9	18,7	14,4	6,01											
8	68,2	19,1	12,7	6,01											
9	67,8	19,7	12,5	5,87											
10	67,8	19,4	12,8	6,02	36,21	19,33	15,8	0	apte	6,62	apte	0	apte	negatiu	apte

Taula 7. Resultats de les mostres del P7.

Preparat 7															
Dia anàlisi	Gasos (%)			pH	Color			Microbiologia							
	O ₂	CO ₂	N ₂		L*	a*	b*	Entero (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	67,6	20,3	12,1	5,99	35,22	18,63	13,64	25	apte	4,46	apte	0	apte		
3	66,8	17,7	15,5	5,55											
4	67,8	18,7	13,5	5,59	37,38	18,75	14,69	<10	apte	5,91	apte	0	apte		
5	66,3	18	15,7	5,35											
6	66,7	17,7	15,6	5,54											
7	65,4	17,8	16,8	5,52											
10	65	17,7	17,3	5,47	34,94	10,14	7,83	<10	apte	5	apte	<10	apte	negatiu	apte

Taula 8. Resultats de les mostres del P8.

Preparat 8															
Dia anàlisi	Gasos (%)			pH	Color			Microbiologia							
	O ₂	CO ₂	N ₂		L*	a*	b*	Entero (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	9	22,1	8,9	6,06	41,47	15,7	15,29	96	apte	4,66	apte	0	apte		
3	66,7	15,6	17,7	5,51											
4	67,8	18,5	13,7	5,6	45,52	16,58	16,13	<10	apte	4,11	apte	0	apte		
5	67	18,4	14,6	5,37											
6	67,3	17,3	15,4	5,56											
7	65,9	17,4	16,7	5,53											
10	65,2	16,1	18,7	5,46	44,54	13,37	10,11	<10	apte	4,61	apte	0	apte	negatiu	apte

Taula 9. Resultats de les mostres del P9.

Preparat 9															
Dia anàlisi	Gasos (%)			pH	Color			Microbiologia							
	O ₂	CO ₂	N ₂		L*	a*	b*	Entero (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	68,8	21,6	9,6	5,91	32,93	16,87	12,03	18	apte	4,30	apte	0	apte		
3	65,7	14,8	19,5	5,6											
4	68,5	19,4	12,1	5,58	35,88	15,93	11,23	<10	apte	3,70	apte	0	apte		
5	67,2	18,5	14,3	5,36											
6	68,2	19,6	12,2	5,58											
7	66,5	19	14,5	5,55											
10	66,4	19	14,6	5,48	34,68	12,98	7,73	<10	apte	3,85	apte	0	apte	negatiu	apte

Taula 10. Resultats de les mostres del P10.

Preparat 10															
Dia anàlisi	Gasos (%)			pH	Color			Microbiologia							
	O ₂	CO ₂	N ₂		L*	a*	b*	Entero (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	67	19	14	5,59	40,72	18,01	9,66	5200	apte	5,32	apte	0	apte		
1	67,2	17,9	14,9	5,57											
2	65,5	16,8	17,7	5,38											
3	68,8	18,3	12,9	5,58											
4	65,7	16,2	18,1	5,6	40,5	16,61	9,96	<10	apte	8,07	No apte	0	apte		
7	66,1	17,6	16,3	5,58											
8	68,1	18,7	13,2	5,61											
9	67,2	17,5	15,3	5,63											
10	65,2	18,7	16,1	5,59	41,03	15,82	9,64	0	apte	5,04	apte	0	apte	negatiu	apte

Taula 11. Resultats de les mostres del P11.

Preparat 11															
Dia anàlisi	Gasos (%)			pH	Color			Microbiologia							
	O ₂	CO ₂	N ₂		L*	a*	b*	Entero (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	68,6	21,7	9,7	5,89	38,97	19,89	11,56	<10	apte	5,76	apte	0	apte		
1	68,1	18,1	13,8	5,91											
2	65,2	14,5	20,3	5,74											
3	68,3	17,8	13,9	5,87											
4	66,5	17,3	16,2	5,89	41,17	17,47	11,03	2300	apte	7,48	No apte	<10	apte		
7	66,1	18,3	15,6	5,88											
8	68,9	19,1	12	5,89											
9	68	19,1	12,9	5,86											
10	65,8	18,8	15,4	5,91	41,37	17,68	11,05	25	apte	5,36	apte	0	apte	negatiu	apte

Taula 12. Resultats de les mostres del P12.

Preparat 12															
Dia anàlisi	Gasos (%)			pH	Color			Microbiologia							
	O ₂	CO ₂	N ₂		L*	a*	b*	Entero (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	68,6	21,1	10,3	5,61	36,57	20,04	8,1	1400	apte	5,20	apte	0	apte		
1	68,4	18,5	13,1	5,62											
2	67,7	17,8	14,5	5,36											
3	68,5	17,9	13,6	5,64											
4	66,8	17,8	15,4	5,5	36,38	16,13	7,86	1600	apte	7,32	No apte	0	apte		
7	66,2	18,6	15,2	5,49											
8	69,2	19,7	11,1	5,45											
9	67,8	19,9	12,3	5,42											
10	65,9	21,9	12,2	5,32	42,21	11,08	8,65	46	apte	5,41	apte	0	apte	negatiu	apte

Annex 4: Resultats Estudi 1

Taula 1: Evolució del perfil de gasos, el pH i el color en el P1 (mitjana \pm d.s.). L* representa la lluminositat, a* les coordenades vermell/verd i b* les coordenades groc/blau.

Dies	% O ₂	% CO ₂	% N ₂	pH	L*	a*	b*
0	67,0 \pm 0,5	21,3 \pm 1,3	11,7 \pm 1,5	5,56 \pm 0,01	38,90 \pm 3,01	19,18 \pm 1,91	11,62 \pm 1,57
1	68,7 \pm 0,6	18,1 \pm 0,6	13,2 \pm 1,2	5,56 \pm 0,01			
2	70,7 \pm 0,2	17,2 \pm 0,9	12,1 \pm 1,0	5,58 \pm 0			
3	72,00 \pm 0,7	17,00 \pm 0,2	11,0 \pm 0,6	5,58 \pm 0,01			
4	64,8 \pm 0,5	16,5 \pm 0,1	18,7 \pm 0,6	5,59 \pm 0,01	39,94 \pm 1,41	16,17 \pm 3,19	14,66 \pm 1,46
7	70,7 \pm 0,4	17,2 \pm 0,3	12,1 \pm 0,7	5,59 \pm 0,01			
8	66,8 \pm 1,3	15,9 \pm 0,6	17,3 \pm 1,9	5,60 \pm 0,01			
9	71,2 \pm 0,7	17,5 \pm 0,4	11,3 \pm 1,0	5,60 \pm 0,01			
10	69,4 \pm 0,4	16,5 \pm 0,7	14,1 \pm 1,0	5,59 \pm 0,01	37,63 \pm 2,86	14,26 \pm 1,92	9,63 \pm 1,47

Taula 2. Resultats microbiològics (mitjana \pm d.s.) del P1 i de la canal utilitzada.

Dia	Enterobacteriàcies (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli(ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	<10 \pm 8,66	APTE	6,65 \pm 0,29	NO APTE	N.D.	APTE		
4	<10	APTE	3,94 \pm 0,06	APTE	N.D.	APTE		
10	<10	APTE	4,48 \pm 0,67	APTE	N.D.	APTE	Negatiu	APTE
Canal	6700	APTE	7,28	APTE	N.D.	APTE	Negatiu	APTE

Taula 3. Anàlisi fisicoquímica del P1.

Preparat	% Grassa	% Proteïna	% Humitat	% Col·lagen
P1	5,99	18,69	71,26	1,68

Taula 4: Evolució del perfil de gasos, el pH i el color en el P2 (mitjana \pm d.s.). L* representa la lluminositat, a* les coordenades vermell/verd i b* les coordenades groc/blau.

Dia	% O ₂	% CO ₂	% N ₂	pH	L*	a*	b*
0	69,9 \pm 0,5	21,9 \pm 0,2	8,2 \pm 0,3	5,84 \pm 0,01	37,29 \pm 1,58	22,60 \pm 1,51	12,20 \pm 0,95
3	68,7 \pm 0,2	16,9 \pm 0,4	14,4 \pm 0,5	5,83 \pm 0,01			
4	68,1 \pm 0,1	16,9 \pm 0,4	15,0 \pm 0,4	5,83 \pm 0,01	37,70 \pm 3,15	18,47 \pm 1,86	10,08 \pm 1,62
6	68,7 \pm 0,2	16,7 \pm 0,6	14,6 \pm 0,4	5,83 \pm 0,01			
7	66,5 \pm 0,1	17,4 \pm 0,8	16,1 \pm 0,9	5,85 \pm 0,01			
10	66,9 \pm 0,4	17,4 \pm 0,3	15,7 \pm 0,7	5,85 \pm 0,01	38,51 \pm 1,68	15,08 \pm 0,75	13,39 \pm 0,90

Taula 5. Resultats microbiològics (mitjana \pm d.s.) del P2.

Dia	Enterobacteriàcies (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	N.D.	APTE	4,64 \pm 0,99	APTE	N.D.	APTE		
4	N.D.	APTE	4,90 \pm 0,56	APTE	N.D.	APTE		
10	<10 \pm (0,5-5,7)	APTE	5,00 \pm 0,55	APTE	N.D.	APTE	Negatiu	APTE
Canal	1800	APTE	5,83	APTE	<10	APTE	Negatiu	APTE

Taula 6. Anàlisi fisicoquímica del P2.

Preparat	% Grassa	% Proteïna	% Humitat	% Col·lagen
P2	7,78	18,81	70,4	4,67

Taula 7: Evolució del perfil de gasos, el pH i el color en el P3 (mitjana \pm d.s.). L* representa la lluminositat, a* les coordenades vermell/verd i b* les coordenades groc/blau.

Dies	% O ₂	% CO ₂	% N ₂	pH	L*	a*	b*
0	66,2 \pm 0,2	21,9 \pm 0,1	11,9 \pm 0,2	5,94 \pm 0,05	40,86 \pm 3,22	19,74 \pm 2,29	11,09 \pm 1,55
3	66,1 \pm 0,3	20,3 \pm 1,9	13,6 \pm 2,1	5,91 \pm 0,02			
4	66,4 \pm 0,5	18,2 \pm 0,3	15,4 \pm 0,4	5,89 \pm 0,01	39,78 \pm 1,77	20,99 \pm 1,69	16,65 \pm 1,01
5	65,5 \pm 1,7	16,6 \pm 1,4	17,9 \pm 3,2	5,89 \pm 0,01			
6	68,7 \pm 0,2	17,9 \pm 0,1	13,4 \pm 0,2	5,89 \pm 0,01			
7	69,3 \pm 0,6	17,4 \pm 0,7	13,3 \pm 0,9	5,88 \pm 0,01			
10	67,2 \pm 0,5	18,0 \pm 0,1	14,8 \pm 0,5	5,87 \pm 0,01	39,07 \pm 3,76	16,76 \pm 1,63	9,70 \pm 1,04

Taula 8. Resultats microbiològics (mitjana \pm d.s.) del P3.

Dia	Enterobacteriàcies (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	230 \pm 75	APTE	5,15 \pm 0,46	APTE	26 \pm 11	APTE		
4	70 \pm 36	APTE	4,49 \pm 0,39	APTE	(14-17) \pm (12-8)	APTE		
10	50 \pm 10	APTE	4,97 \pm 0,54	APTE	<10 \pm 0	APTE	Negatiu	APTE
Canal	3,04 \pm 0,30	APTE	5,19 \pm 0,38	APTE	N.D.	APTE	Negatiu	APTE

Taula 9. Anàlisi fisicoquímica del P3.

Preparat	% Grassa	% Proteïna	% Humitat	% Col·lagen
P3	6,35	19,41	71,47	1,29

Annex 5: Resultats Estudi 2

Taula 1 Evolució del perfil de gasos, el pH i el color en els P1F₁ i del P1F₂ (mitjana \pm d.s.). L* representa la lluminositat, a* les coordenades vermell/verd i b* les coordenades groc/blau.

Repetició	Dies	% O ₂	% CO ₂	% N ₂	pH	L*	a*	b*
P1F ₁	0	68,8 \pm 0,4	23,5 \pm 0,4	7,7 \pm 0,1	5,62 \pm 0,01	43,63 \pm 4,91	20,83 \pm 3,13	12,91 \pm 1,87
	1	70,3 \pm 0,6	24,6 \pm 0,6	5,1 \pm 1,2	5,63 \pm 0,01			
	2	71,3 \pm 0,3	24,9 \pm 0,1	3,8 \pm 0,3	5,63 \pm 0,01			
	3	65,6 \pm 0,1	25,1 \pm 1,1	9,3 \pm 1,0	5,67 \pm 0			
	6	70,7 \pm 0,1	25,7 \pm 1,1	3,6 \pm 1,1	5,7 \pm 0,0	45,09 \pm 2,76	10,19 \pm 1,69	13,72 \pm 0,80
	7	68,6 \pm 1,1	25,8 \pm 0,2	5,6 \pm 0,9	5,7 \pm 0,0			
	8	70,9 \pm 0,3	26,1 \pm 0,6	3,0 \pm 0,3	5,7 \pm 0,0			
P1F ₂	0	68,5 \pm 1,0	23,8 \pm 0,8	7,8 \pm 1,9	5,62 \pm 0,01	52,76 \pm 3,17	19,09 \pm 2,82	13,56 \pm 1,02
	1	69,7 \pm 0,6	25,4 \pm 0,3	5,0 \pm 0,9	5,62 \pm 0,01			
	2	66,5 \pm 1,53	25,5 \pm 1,05	8,0 \pm 2,57	5,71 \pm 0,01			
	6	66,9 \pm 0,6	27,8 \pm 1,1	5,3 \pm 0,9	5,71 \pm 0,01	53,25 \pm 3,04	8,89 \pm 1,15	11,25 \pm 0,99
	7	67,3 \pm 0,7	27,0 \pm 1,0	5,3 \pm 0,3	5,72 \pm 0,01			
	9	67,8 \pm 0,5	27,0 \pm 0,81	5,2 \pm 0,4	5,72 \pm 0			
	10	65,2 \pm 1,0	27,7 \pm 0,7	7,1 \pm 1,2	5,72 \pm 0,01	53,77 \pm 2,82	7,13 \pm 2,05	11,65 \pm 0,88

Taula 2. Resultats microbiològics del P1F₁ i del P1F₂ (mitjana \pm d.s.).

Repetició	Dies	Enterobacteriàcies (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
P1F ₁	0	<10	APTE	error	APTE	0	APTE		
	2	<10	APTE	5,85 \pm 0,63	APTE	1,2 · 10 ³ \pm 1,4 · 10 ³	APTE		
	6	57 \pm 51	APTE	4,81 \pm 0,49	APTE	13 \pm 8	APTE		
	Canal	<10	APTE	5,34	APTE	0	APTE	Negatiu	APTE
P1F ₂	0	249 \pm 400	APTE	5,21 \pm 0,31	APTE	0	APTE		
	6	10-20	APTE	4,52 \pm 0,26	APTE	0	APTE		
	10	<10	APTE	4,83 \pm 0,31	APTE	0	APTE	Negatiu	APTE
	Canal	165	APTE	5,59	APTE	0	APTE	Negatiu	APTE

Taula 3. Anàlisi fisicoquímica del P1F₂.

Preparat	% Grassa	% Proteïna	% Humitat	% Col·lagen
P1F ₂	22,37	15,97	59,61	2,12

Taula 4: Evolució del perfil de gasos, el pH i el color en el P2F (mitjana \pm d.s.). L^* representa la lluminositat, a^* les coordenades vermell/verd i b^* les coordenades groc/blau.

Dies	% O ₂	% CO ₂	% N ₂	pH	L*	a*	b*
0	70,1 \pm 0,5	19,2 \pm 0,3	10,7 \pm 0,2	5,8 \pm 0,02	49,89 \pm 1,48	25,82 \pm 1,49	17,05 \pm 0,84
1	68,8 \pm 0,5	17,5 \pm 0,6	13,7 \pm 0,4	5,8 \pm 0,02			
2	64,9 \pm 2,0	17,5 \pm 1,5	17,6 \pm 3,1	5,83 \pm 0,01			
5	68,4 \pm 0,8	17,8 \pm 1,1	13,8 \pm 1,0	5,84 \pm 0,01	48,84 \pm 1,48	17,66 \pm 2,37	18,57 \pm 1,52
6	68,6 \pm 0,4	18,8 \pm 0,9	12,6 \pm 0,7	5,85 \pm 0,01			
7	68,6 \pm 1,6	17,4 \pm 2,4	14,0 \pm 3,7	5,84 \pm 0,01			
8	68,4 \pm 0,3	18,6 \pm 0,9	13,0 \pm 1,2	5,84 \pm 0,01			
9	68,4 \pm 1,4	17,0 \pm 1,2	14,6 \pm 2,6	5,84 \pm 0,01	48,07 \pm 3,23	16,16 \pm 2,23	12,93 \pm 0,78

Taula 5. Resultats microbiològics del P2F (mitjana \pm d.s.).

Dies	Enterobacteriàcies (ufc/g)		Mesòfils aerobis (Log ₁₀)		E. coli (ufc/g)		Salmonella (ufc/g)	
0	<10	APTE	5,04 \pm 0,24	APTE	0	APTE		
5	<10	APTE	4,97 \pm 0,72	APTE	0	APTE		
9	<10	APTE	4,34 \pm 0,50	APTE	<10	APTE	Negatiu	APTE
Canal	<10	APTE	5,02	APTE	0	APTE	Negatiu	APTE

Taula 6. Anàlisi fisicoquímica del P2F.

Preparat	% Grassa	% Proteïna	% Humitat	% Col·lagen
P2F	18,70	16,90	61,66	2,62